

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE L. PASTEUR

PAR

E. DUCLAUX

ET CONTINUÉES PAR

E. ROUX (1904)

A. CALMETTE (1922)

COMITÉ DE DIRECTION

**Gab. BERTRAND, E. LECLAINCHE, L. MARTIN,
G. RAMON,**

assistés des Professeurs et Chefs de service de l'Institut Pasteur,

Secrétaire général : A. BOQUET.

TOME SOIXANTE-TROISIÈME

Juillet-Décembre 1939

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6^e).

QR

1

A475

v.63

July-Dec.

1939

PER

PARIS. — ANC^{de} IMP. DE LA COUR D'APPEL, 1, RUE CASSETTE. — 1939.

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

ŒUVRES DE PASTEUR

RÉUNIES PAR PASTEUR VALLERY-RADOT.

Tome VII, *Mélanges scientifiques et littéraires. [Index analytique et synthétique de l'œuvre de Pasteur]* (1).

Au lendemain du cinquantenaire de la fondation de l'Institut Pasteur, les *Annales* se doivent de signaler à leurs lecteurs que le tome VII et dernier des œuvres de Pasteur vient de paraître.

Pieusement recueillies par M. Pasteur Vallery-Radot au foyer même où elles ont été élaborées ; collationnées et classées avec le souci filial de rendre éclatant aux yeux de tous le splendide et harmonieux développement d'un incomparable génie ; présentées dans un cadre parfait, ces œuvres nous donnent, après celle de René Vallery-Radot, une nouvelle « Vie de Pasteur » écrite feuille à feuille, presque jour à jour, par le Maître, aux heures paisibles et sereines de la méditation qui succède au bouillonnement des idées créatrices et aux émotions de la recherche. Elles sont aussi, pour tous les pastoriens et pour tous les travailleurs qui ont orienté leur activité intellectuelle vers l'étude de la Bactériologie et de la Pathologie expérimentale des infections microbiennes, un monument scientifique du style le plus pur, d'une

(1) 1 vol. gr. in-8° de 666 pages. Paris, Masson et C^{ie}, édit., 1939.

puissance et d'une majesté sans égales, une Somme irrissable, la plus noble, la plus féconde et la plus généreuse expression de la pensée.

Il faut relire cette épopée dont chaque chant retrace un épisode de la lutte entreprise par un homme-dieu, comme aux temps légendaires de la Grèce dorienne, pour délivrer l'Humanité des maux terrifiants qui l'accablent, et aussi pour porter plus loin le flambeau qui guide sa marche indécise.

Il faut la relire pour s'éclairer à cette lumière, rectifier son jugement, affiner et polir sa raison ; pour se purifier des péchés de vanité et d'orgueil à cette source de sagesse, s'améliorer et se grandir. Et aussi pour goûter l'enchantement d'une œuvre littéraire d'une exceptionnelle beauté, où Pasteur se retrouve tout entier : attentif et grave, volontaire et pensif, avec toute sa force, son courage et sa flamme, sa prodigieuse intelligence, sa fermeté inébranlable, sa confiance en l'avenir, sa foi et sa passion d'adoucir le sort des hommes par les conquêtes de son esprit.

Écoutons sa voix et suivons ses conseils dont voici quelques-uns :

Sur la formation des travailleurs dans les laboratoires.

L'esprit pastorien.

« Nous pouvons avoir la plus salutaire influence sur l'éducation intellectuelle et morale de nos élèves dans cette communion d'idées nécessitée par les travaux pratiques des laboratoires... Combien de notions saines, de sages habitudes d'observation, combien de prudence dans les inductions à tirer des faits qu'ils étudient, ne pouvons-nous pas inculquer dans ces jeunes esprits dont les impressions sont si vives ? Aussi bien, pour que cet enseignement porte tous ses fruits, faut-il que les maîtres aient développé en eux-mêmes et porté à une grande hauteur, par le travail patient du laboratoire dans des études originales, toutes les qualités que je viens de signaler. »

(Ecrit en 1855, T. VII, p. 137.)

Sur le domaine de l'expérimentation.

« L'expérimentateur, homme de conquêtes sur la nature, se trouve sans cesse aux prises avec des faits qui ne se sont point

encore manifestés et n'existent, pour la plupart, qu'en puissance de devenir dans les lois naturelles. L'inconnu dans le possible et non dans ce qui a été, voilà son domaine, et, pour l'explorer, il a le recours de cette merveilleuse méthode expérimentale dont on peut dire avec vérité, non qu'elle suffit à tout, mais qu'elle trompe rarement et ceux-là seulement qui s'en servent mal. Elle élimine certains faits, en provoque d'autres, interroge la nature, la force à répondre, et ne s'arrête que quand l'esprit est pleinement satisfait. Le charme de nos études, l'enchantement de la science, si l'on peut parler ainsi, consiste en ce que, partout et toujours, nous pouvons donner la justification de nos principes et la preuve de nos découvertes. »

(Discours de réception à l'Académie française,
27 avril 1882, T. VII, p. 334.)

*A propos de l'éloquence
dans la relation des faits scientifiques.*

« Croyez-vous donc que je sois insensible à l'éloquence ! Mais je la veux dans les faits et point dans les mots.

En est-il de plus haute que celle qui ressort de l'exposition claire, précise, imagée même, si vous le voulez, de faits nouveaux et féconds ?

Apportez ici ce genre d'éloquence et j'y applaudirai. Ce que je redoute pour cette Académie, c'est l'éloquence des idées, ou des dissertations qui sont des déductions d'hypothèses ou de conjectures et non l'expression ou la déduction de faits rigoureux bien observés.

Sans doute, la médecine n'a pas des principes aussi assurés que beaucoup d'autres sciences. L'observation et l'expérimentation y sont plus difficiles. L'esprit de déduction doit intervenir plus souvent qu'en physique et en chimie par exemple. C'est une raison de plus pour y craindre la pente glissante de l'hypothèse et des idées préconçues. Quand on s'y livre, c'est ce que j'appelle *discourir*, comme on appelle *discours* celui qui parle sur des on-dit, sur des banalités ou des à peu près. »

(Ecrit en 1875, T. VII, p. 296.)

Gardez votre enthousiasme et ayez le culte de l'esprit critique.

« Cet enthousiasme, que vous avez eu dès la première heure, gardez-le, chers collaborateurs, mais donnez-lui pour compagnon

inséparable un sévère contrôle. N'avancez rien qui ne puisse être prouvé d'une façon simple et décisive. Ayez le culte de l'esprit critique. Réduit à lui seul, il n'est ni un éveilleur d'idées, ni un stimulant de grandes choses. Sans lui, tout est caduc. Il a toujours le dernier mot. Ce que je vous demande là et ce que vous demanderez à votre tour aux disciples que vous formerez, est ce qu'il y a de plus difficile à l'inventeur : Croire que l'on a trouvé un fait scientifique important, avoir la fièvre de l'annoncer et se contraindre des journées, des semaines, parfois des années à se combattre soi-même, à s'efforcer de ruiner ses propres expériences, et ne proclamer sa découverte que lorsqu'on a épuisé toutes les hypothèses contraires, oui, c'est une tâche ardue. Mais quand, après tant d'efforts, on est enfin arrivé à la certitude, on éprouve une des plus grandes joies que puisse ressentir l'âme humaine, et la pensée que l'on contribuera à l'honneur de son pays rend cette joie plus profonde encore. Si la science n'a pas de patrie, l'homme de science doit en avoir une, et c'est à elle qu'il doit reporter l'influence que ses travaux peuvent avoir dans le monde. »

(Discours prononcé à l'inauguration de l'Institut Pasteur
le 14 novembre 1888, T. VII, p. 419.)

Une table chronologique, une table des noms cités et un index analytique et synthétique terminent le tome VII des *Œuvres de Pasteur*. L'index, en particulier, permettra au lecteur de se reporter facilement à la source même des sujets qui l'intéressent plus spécialement dans cet immense Recueil que nous devons à la piété et à la vénération du petit-fils de Pasteur.

A. BOQUET.

ACTION EMPÊCHANTE DES FOYERS INFLAMMATOIRES SUR L'ÉVOLUTION DU CHARBON BACTÉRIIDIEN

PAR ALFRED BOQUET et NICOLAS STAMATIN.

(*Institut Pasteur.*)

Sous le nom d'antagonisme microbien, on désigne, depuis de Bary (1879), l'action que certains germes, pathogènes ou non, exercent sur des microbes d'espèces différentes en mettant obstacle à leur végétation *in vitro* ou en entravant leur développement *in vivo*, atténuant ainsi ou même inhibant complètement les troubles locaux ou généraux qu'ils provoquent d'ordinaire lorsqu'ils interviennent seuls. En ce qui concerne la bactériodie charbonneuse, ces deux modalités de l'antagonisme microbien se manifestent avec une telle netteté que, déjà signalées en 1877 et 1880 par Pasteur, elles ont été depuis l'objet d'un très grand nombre d'observations et de recherches expérimentales.

En 1886, Emmerich démontrait que si l'on inocule des streptocoques sous la peau du lapin, avant ou après des bactériodies virulentes, on prévient l'évolution du charbon. Peu après, des résultats analogues furent également obtenus avec le Pneumocoque et le Pneumobacille de Friedländer (Pawlowsky, 1887), le Vibrion cholérique (Zagari, 1887), le Staphylocoque (Pawlowsky, 1887 ; di Mattei, 1889 ; Beco, 1893 ; Emmerich et Low, Woodhead et Cartwright Wood, 1889), le Bacille du rouget du Porc (Alonzo, 1892) et même avec des germes saprophytes comme le *M. prodigiosus* (Pawlowsky, H. Roger, 1895).

Assez négligée depuis la guerre, l'étude de ce phénomène fut cependant reprise de temps à autre à propos des effets empêchants du Bacille pyocyanique, du *B. coli*, du Bacille typhique, du Streptocoque et du Staphylocoque (W. Silberschmidt et E. Schoch, 1920 ; M. Gundel et H. Khewé, 1932 ;

M. P. Isabolinsky et R. M. Sobeleva, 1934), du vaccin jennérien (Fürst, 1930) et du virus sensibilisé de la clavelée (Jézic, 1936) sur le développement de l'infection charbonneuse. Les récentes recherches de Besredka sur la *bactériothérapie locale* s'appliquent à des faits de même ordre relatifs à l'antagonisme entre le Streptocoque et le deuxième vaccin charbonneux dans l'organisme du lapin.

Diverses notions de grande importance furent ainsi graduellement acquises. On reconnut, par exemple, que l'action empêchante des germes associés à la bactéridie ne se manifeste que si les deux microbes sont inoculés en mélange sous la peau ou l'un après l'autre, à bref délai, au même point ; mais elle n'est pas liée à la vitalité et à la pullulation du germe antagoniste, car Buchner (1890), puis H. Roger (1893) démontrèrent que les cultures tuées du bacille de Friedländer et du *M. prodigiosus* s'opposent avec la même efficacité que les cultures vivantes à la végétation *in vivo* de la bactéridie. Plus encore, d'après Freudenreich (1889), Woodhead et Cartwright Wood (1889), Delarbre (1906) et Fortineau (1910), les cultures stérilisées et la toxine du bacille pyocyanique, lorsqu'elles sont injectées sous la peau après la bactéridie, seraient capables de ralentir, voire d'empêcher l'évolution du charbon.

Pour Silberschmidt et Schoch, les animaux protégés par un germe antagoniste n'acquièrent aucune résistance contre l'infection charbonneuse. A. Besredka, au contraire, a réussi à mettre en évidence une véritable immunité chez des lapins qui avaient reçu, huit jours auparavant, dans la peau ou sous la peau, soit des bactéridies et des streptocoques simultanément en mélange, soit des bactéridies puis des streptocoques, à trois ou six heures d'intervalle. Dans le même ordre de faits, N. Blagovestschensky avait déjà réussi, en 1890, à immuniser contre le charbon 4 lapins sur 6 en leur inoculant sous la peau d'abord « 1 cent. cube de culture charbonneuse et ensuite, autour du point d'injection, à la distance d'un centimètre... de 1/2 jusqu'à 1 cent. cube de culture stérilisée de pus bleu dans du bouillon. Ces dernières inoculations

furent répétées toutes les vingt-quatre heures pendant quatre ou cinq jours ».

Maintes hypothèses ont été émises, qui se proposaient d'expliquer le mécanisme physiologique de l'antagonisme microbien. Les unes tendaient à faire intervenir les effets nocifs, pour la bactériémie, des produits sécrétés par les microbes associés, les autres invoquaient une sorte de concurrence entre les germes, assez mal définie d'ailleurs et comparée par Silberschmidt et Schoch à l'action empêchante que, d'après Metchnikoff, certaines bactéries du tube digestif exercent sur le développement de l'infection cholérique expérimentale chez le lapin. N. Blagovestschensky pensait que l'atténuation de la bactériémie due à des substances émises *in vivo* par le bacille pyocyanique « facilite peut-être l'activité des phagocytes, activité à laquelle viendraient s'ajouter encore d'autres facteurs ». Avec plus de précision, Von Dungern concluait que « lorsque l'infection charbonneuse ne se généralise pas grâce à l'influence des bactéries encapsulées de Friedländer, cela dépend de ce que les bactériémies sont englobées au point d'inoculation et détruites à l'intérieur de ces cellules ».

Dans la suite, l'attention des chercheurs s'étant détournée de ce problème, la littérature scientifique se borna à enregistrer l'antagonisme *in vivo* parmi les effets des associations microbiennes, dont G. Papacostas et J. Gaté ont fait, en 1928, un remarquable exposé d'ensemble. Le phénomène était étudié en soi, comme un cas spécial de la concurrence vitale, dans le vaste chapitre des infections mixtes et des infections secondaires, mais, sauf E. Metchnikoff dans son ouvrage fondamental sur l'immunité (1901), on ne se préoccupa guère, jusqu'à ces dernières années, de le situer dans le cadre des réactions tissulaires aux infections, ni de le comparer aux phénomènes similaires décrits depuis longtemps par Klein (1893), Sobernheim, Issaëff (1894) et J. Bordet (1897) sur le rôle protecteur des réactions inflammatoires du tissu conjonctif sous-cutané et du péritoine à l'égard des effets pathogènes du vibron cholérique et du streptocoque.

C'est André Gratia qui, le premier (1924), eut l'idée de

rechercher comment la bactériémie charbonneuse se comporte dans l'organisme du cobaye quand le tégument où elle est inoculée est « protégé par une mobilisation préalable des facteurs de la phagocytose », en dehors de toute association microbienne. Gratia prépare une série de cobayes en leur injectant du bouillon dans la peau de l'abdomen et, trente-six heures après, il leur inocule, dans le tissu conjonctif de la même région, de 0 c. c. 001 à 0 c. c. 00001 de culture en bouillon de bactériémie, en même temps qu'à des témoins. Ceux-ci meurent de charbon en quatre ou cinq jours. Au contraire, les cobayes préparés supportent sans dommage les doses de 0 c. c. 00001 et même 0 c. c. 0001. Ne contractent le charbon que ceux qui ont reçu la plus forte dose d'épreuve, c'est-à-dire 0 c. c. 001.

En essayant de vérifier si la résistance des cobayes tuberculeux à l'infection charbonneuse, mise en évidence par Hiramaya, est plus ou moins sous la dépendance de réactions allergiques locales, non spécifiques, l'un de nous, avec C. Ninni et J. Bretey (1932), a constaté les faits suivants :

Quel que soit le degré de leur sensibilité allergique et même s'ils ont été, au préalable, désensibilisés par des injections de tuberculine, les cobayes tuberculeux qui reçoivent dans le derme 0 c. c. 1 d'une dilution de tuberculine brute à 1 p. 10 et, vingt-quatre heures plus tard, au même point, de 1/200° à 1/400° de centimètre cube de deuxième vaccin charbonneux, résistent pour la plupart, alors que tous les cobayes témoins meurent de charbon. Mais les cobayes neufs que l'on éprouve comme les précédents, vingt-quatre heures après une injection intradermique de tuberculine, échappent à l'infection charbonneuse dans les mêmes proportions que les cobayes tuberculeux.

L'effet protecteur que la réaction inflammatoire produite par la tuberculine exerce ainsi à l'égard du charbon bactériémique, est strictement limité à la petite zone intéressée par l'injection préparante. Déjà manifeste à partir de la douzième heure après cette injection, il atteint son intensité maximum vers la vingt-quatrième heure et cesse vers la quarante-huitième heure. Aucune immunité n'apparaît dans la suite,

même lorsqu'on répète l'injection virulente trois ou quatre fois tous les huit ou dix jours à doses croissantes, en zone préparée.

Dans les mêmes conditions, les protéides précipités par l'acide trichloracétique des cultures de bacilles de Koch protègent 3 cobayes neufs sur 4 contre l'inoculation, faite vingt-quatre heures plus tard, au même point de la peau, de 1/300^e de centimètre cube de deuxième vaccin charbonneux ; le bouillon peptoné fraîchement préparé, 3 cobayes sur 4 ; le BCG vivant et des bacilles tuberculeux virulents tués par la chaleur, à la dose de 1 milligramme, 3 cobayes sur 5 ; une solution de gomme arabique à 5 p. 100, l'eau salée à 3 p. 100 et le sérum de cheval, 1 cobaye sur 3. Se sont montrées inefficaces, bien que dans quelques cas le développement de l'infection charbonneuse ait été retardé : l'eau peptonée à 1 et 5 p. 100, une décoction de mie de pain, l'encre de Chine et l'eau physiologique. Enfin, tous les cobayes infectés par inoculation de deuxième vaccin charbonneux à la même dose que les précédents, mais dans une région de la peau simplement épilée et rasée, ou fortement contusionnée par écrasement vingt-quatre heures auparavant, sont morts de charbon dans les mêmes délais que les témoins.

Les recherches que nous avons effectuées récemment et qui font l'objet de ce mémoire, nous ont conduits à examiner chez le lapin les effets antagonistes d'autres substances, de certaines toxines microbiennes et de bactéries vivantes ou tuées. Elles nous ont permis de suivre le sort de la bactéridie charbonneuse dans les foyers inflammatoires et de vérifier si l'infection ainsi « escamotée », selon l'expression pittoresque de notre collègue Staub, s'accompagne ou non d'une immunité spécifique appréciable.

I. — Inoculation intradermique ou sous-cutanée de bactériidies en suspension dans un liquide inflammatoire ou mélangées extemporanément avec des germes microbiens.

La souche de bactériдие que nous avons employée dans toutes nos expériences a été isolée le 21 janvier 1938, à l'Institut Pasteur de Bucarest, du cadavre d'un cheval charbonneux. Elle donne en vingt-quatre heures, dans le bouillon, une culture abondante et homogène qui contient environ 5.000.000 de germes par centimètre cube.

Douée d'une très haute virulence, cette souche, inoculée par voie dermique, tue régulièrement le lapin de 2 kilogrammes à 2 kilogr. 500 en deux ou trois jours à la dose de 0 c. c. 000025 et le cobaye en trois à cinq jours à la dose de 0 c. c. 000.001 d'une culture en bouillon âgée de vingt-quatre heures.

A. — BACTÉRIDIES EN SUSPENSION DANS UNE DILUTION DE TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE.

Au moment de l'emploi, la toxine staphylococcique (1) est diluée à 1 p. 400 ou à 1 p. 1.000 dans de l'eau physiologique. L'injection intradermique de 1 cent. cube de l'une ou l'autre de ces dilutions détermine chez le lapin la formation sur place d'un œdème inflammatoire plus ou moins étendu, qui atteint souvent le volume d'une amande en vingt-quatre heures et aboutit parfois à la nécrose de la peau.

EXPÉRIENCE I. — Deux lapins reçoivent dans la peau épilée de l'abdomen un mélange de 0 c. c. 3 de toxine staphylococcique diluée à 1 p. 1.000 et de 0 c. c. 2 de culture de bactériдие diluée à 1 p. 1.000, soit 8 doses mortelles. *L'un résiste, l'autre meurt de charbon* en trois jours, dans les mêmes délais que les lapins témoins.

Deux autres lapins, qui avaient également reçu par voie dermique un mélange de 0 c. c. 5 de toxine staphylococcique diluée à 1 p. 1.000

(1) Nous exprimons tous nos remerciements à M. G. Ramon, sous-Directeur de l'Institut Pasteur, qui a bien voulu nous fournir la toxine staphylococcique employée dans ces expériences.

et de 0 c. c. 2 de culture de bactériodie diluée à 1 p. 10, soit 800 doses mortelles, *sont morts de charbon en trois jours.*

Un lapin inoculé par voie sous-cutanée avec le même mélange a eu le même sort.

B. — BACTÉRIDIES MÉLANGÉES AVEC DES MICROBES VIVANTS
(*Staphylocoque, B. coli*).

EXPÉRIENCE II. — On inocule à 2 lapins, par voie dermique, un mélange de 0 c. c. 3 d'une suspension de culture sur gélose, âgée de vingt-quatre heures, de staphylocoque toxigène (10 cent. cubes d'eau physiologique par tube de culture) et de 0 c. c. 1 de culture de bactériodie à 1 p. 10, soit 400 doses mortelles. *Les deux animaux résistent.*

La même expérience est répétée sur deux autres lapins, avec un mélange de 0 c. c. 1 d'une suspension de culture sur gélose âgée de vingt-quatre heures, de *B. coli* toxigène (10 cent. cubes d'eau physiologique par tube de culture) et de 0 c. c. 1 de culture de bactériodie diluée à 1 p. 10. *Les deux animaux résistent.*

C. — BACTÉRIDIES MÉLANGÉES
AVEC DES MICROBES PATHOGÈNES TUÉS (*B. coli*).

EXPÉRIENCE III. — Deux lapins auxquels on avait inoculé par voie dermique un mélange de 8 doses mortelles de bactéridies et de 0 c. c. 3 de culture en bouillon Martin de *B. coli* âgée de six jours et stérilisée par chauffage à 58° pendant une heure, *n'ont pas contracté le charbon.*

Tous les lapins neufs qui, dans ces trois séries d'expériences, reçurent de une à quatre doses mortelles de bactéridies dans la peau, sont morts de charbon en deux ou trois jours. Ceux qui furent inoculés en un point de la peau *situé en dehors des foyers inflammatoires* ont également contracté le charbon et ont succombé dans les mêmes délais que les lapins témoins.

Sans doute, chez les lapins préparés avec la toxine staphylococcique, celle-ci s'est montrée peu efficace à faible dose, quant aux effets protecteurs de l'inflammation qu'elle produit dans le tégument, mais, le staphylocoque vivant et le *B. coli* vivant ou mort, ont inhibé complètement le développement de la bactériodie charbonneuse dans le tissu le plus réceptif de l'économie, même lorsque ce germe, d'une virulence très

élevée, était inoculé à des doses capables de tuer plusieurs centaines de lapins. Les résultats que nous avons ainsi obtenus confirment les observations anciennes de Pawlowsky, de Silberschmidt et Schoch, Gundel et Khewe ; en outre, ils apportent des précisions nouvelles sur la valeur de la résistance que la réaction dermique, engendrée par le *B. coli* et le staphylocoque, oppose à la végétation de la bactériémie au même point.

II. — Injections successives, au même point, de substances irritantes ou de germes microbiens tués, puis de bactériémies.

EXPÉRIENCE IV. — Huit lapins reçoivent *dans la peau* de l'abdomen 0 c. c. 5 d'une dilution à 1 p. 5 de *tuberculine brute*. Le lendemain, on leur inocule, exactement au même point, 20 doses mortelles de bactériémies. *Cinq résistent et un meurt de charbon* en trois jours dans les mêmes délais que les témoins.

Deux lapins, éprouvés comme les précédents par inoculation, dans un foyer inflammatoire de 10 doses mortelles de bactériémies, 2 autres éprouvés de même avec 30 doses mortelles, 4 lapins éprouvés avec 160 doses mortelles et 4 lapins éprouvés avec 400 doses mortelles ont également échappé à l'infection charbonneuse.

Quatre autres lapins, qui avaient reçu *dans la peau* 0 c. c. 5 de *tuberculine brute* diluée à 1 p. 5, ont été éprouvés par inoculation, au même point, de 20 doses mortelles de bactériémies : 2 quarante-huit heures plus tard et 2 soixante-douze heures plus tard. *Les 2 premiers ont résisté ; 1 lapin du deuxième lot est mort de charbon.*

EXPÉRIENCE V. — A. On injecte dans le derme de 4 lapins 1 cent. cube de *toxine staphylococcique* diluée à 1 p. 1.000 et, le lendemain, au même point 0 c. c. 2 de culture en bouillon de bactériémie, soit 8.000 doses mortelles. *Trois résistent et un meurt de charbon* en cinq jours.

B. Quatre lapins reçoivent en des points différents de la région abdominale, 5 injections intradermiques de *toxine staphylococcique* diluée à 1 p. 1.000. Le lendemain on inocule, dans chaque foyer inflammatoire, 0 c. c. 2 d'une culture de bactériémie en bouillon, âgée de vingt-quatre heures. Chaque lapin reçoit ainsi, au total, 1 cent. cube de culture virulente, soit 40.000 doses mortelles. *L'un d'eux est mort de charbon sept jours après cette épreuve massive.* Au contraire des animaux témoins infectés par voie dermique, il ne présentait aucune trace de l'œdème caractéristique habituel dans la région inoculée, mais sa rate contenait de nombreuses bactériémies encapsulées. *Les trois autres lapins ont résisté.*

EXPÉRIENCE VI. — La préparation de la peau est effectuée au moyen d'une injection intradermique de 0 c. c. 3 de culture de *B. coli tué*. Deux lapins ainsi préparés reçoivent le lendemain, au même point, 20 doses mortelles de bactériidies. *Ils résistent.*

EXPÉRIENCE VII. — La préparation de la peau est effectuée au moyen d'une injection intradermique de 1 cent. cube de *bouillon ordinaire*. Les deux lapins ainsi préparés ont reçu le lendemain, au même point, 400 doses mortelles de bactériidies. *Ils n'ont pas contracté le charbon.*

EXPÉRIENCE VIII. — Même expérience en remplaçant le bouillon par 0 c. c. 5 d'eau salée à 3 p. 100. Epreuve le lendemain au même point (8 doses mortelles). *Les deux lapins ainsi préparés ont résisté.*

EXPÉRIENCE IX. — Même expérience avec de l'aleurone (0 c. c. 5 d'une suspension à 1 p. 100 dans de l'eau physiologique). Même épreuve. *Les deux lapins ont résisté.*

EXPÉRIENCE X. — Même expérience avec 1 cent. cube d'une solution de gélose à 2 p. 1.000 dans l'eau distillée (titre de la dilution employée par G. Ramon et A. Staub pour la dilution de leur vaccin charbonneux). Les 4 lapins ainsi préparés ont reçu le lendemain, au même point, 8.000 doses mortelles de bactériidies. *Aucun n'a contracté le charbon.*

EXPÉRIENCE XI. — Même expérience avec 1 cent. cube de la même solution à 2 p. 1.000 dans l'eau physiologique. Même épreuve. *Trois lapins ont résisté. Un est mort de charbon.*

EXPÉRIENCE XII. — Même expérience avec 1 cent. cube d'une solution d'alun de potasse à 3 p. 100 (également employée par G. Ramon et A. Staub pour la dilution du vaccin charbonneux). *Trois lapins ont résisté à l'inoculation faite le lendemain, au même point, de 8.000 doses mortelles de bactériidies. Un est mort de charbon.*

EXPÉRIENCE XIII. — On injecte dans le derme de 2 lapins 1 cent. cube de solution de chlorhydrate d'histamine à 1 p. 1.000. Une grosse papule gorgée de liquide se développe en quelques instants. Au bout de vingt minutes on injecte dans cette papule même, 4 doses mortelles de bactériidies. Les deux animaux sont morts de charbon en moins de soixante-douze heures. Deux autres lapins préparés et éprouvés comme les précédents, mais chez lesquels l'injection d'histamine fut renouvelée au même point, une heure et six heures après l'inoculation de bactériidies, sont morts également de charbon.

Deux lapins préparés par une injection intradermique de solution d'adrénaline à 1 p. 1.000 et éprouvés par inoculation au même point, vingt minutes après, de 4 doses mortelles de bactériidies, ont contracté le charbon.

EXPÉRIENCE XIV. — La préparation des animaux est faite la veille au moyen d'une inoculation de 1 cent. cube d'une culture en bouillon d'une souche de bactériidie fortement œdématogène mais non capsu-

logène et peu virulente pour le lapin, isolée par l'un de nous (N. Stamatine) de la souche virulente employée dans ces expériences.

Les deux lapins ainsi préparés ont reçu le lendemain dans la peau cédématisée, 800 doses mortelles de bactériidies virulentes. *Ils ont résisté.*

EXPÉRIENCE XV. — Deux lapins reçoivent sous la peau de l'abdomen 1 cent. cube de toxine staphylococcique diluée à 1 p. 1.000 et, le lendemain, au même point, également sous la peau, 8.000 doses mortelles de bactériidies. *Aucun ne contracte le charbon.*

Deux autres lapins, éprouvés de même vingt-quatre heures après une injection sous-cutanée de 0 c. c. 5 de culture tuée de *B. coli*, sont restés indemnes.

Tous les lapins témoins qui avaient reçu sous la peau 0 c. c. 0001 de culture de bactériodie, soit 4 doses mortelles par voie dermique, sont morts charbonneux en deux ou trois jours.

Même s'il existe quelques différences dans le degré de la protection conférée par la réaction cutanée ou sous-cutanée engendrée par ces différentes substances ou par des germes microbiens, et si l'on tient compte, pour les animaux, de certaines particularités individuelles, susceptibles de modifier l'intensité de cette réaction, d'autre part de la quasi-impossibilité d'opérer dans tous les cas dans des conditions rigoureusement identiques soit pour l'injection préparante, soit pour l'injection virulente d'épreuve, on peut conclure de cette série d'essais que l'inoculation de doses quelconques de bactériidies virulentes reste sans effet quand elle est effectuée dans un foyer inflammatoire récent.

Cette résistance tissulaire locale, conférée par l'injection intradermique de tuberculine, par exemple, s'affaiblit rapidement. Quand l'épreuve virulente est faite avec 20 doses mortelles de bactériidies trois jours après l'injection intradermique préparante, 1 lapin sur 2 contracte le charbon.

III. — Inoculation intradermique de bactériidies suivie d'une inoculation de germes étrangers vivants au même point.

EXPÉRIENCE XVI. — Deux lapins reçoivent dans le derme 4 doses mortelles de bactériidies et, *une heure après*, au même point, 0 c. c. 5 d'une suspension de staphylocoques toxigènes vivants (10 cent. cubes d'eau physiologique pour une culture sur gélose âgée de vingt-quatre heures). *Les deux animaux résistent.*

Sept autres lapins infectés dans les mêmes conditions et inoculés également au même point, avec une suspension de staphylocoques, *six heures plus tard, ont également résisté*. Mais 2 lapins réinoculés avec la même suspension de staphylocoques *vingt-quatre heures après* l'inoculation de 4 doses mortelles de bactériidies, *sont morts de charbon*, l'un en soixante-seize heures, l'autre en quatre-vingt-quatre heures.

Des faits analogues, montrant que le développement de l'infection charbonneuse peut être arrêté même lorsqu'on n'intervient que plusieurs heures après l'inoculation de bactériidies virulentes, avaient déjà été constatés par Emmerich (1886) pour le streptocoque de l'érysipèle ; par Woodhead et Wood (1889), Delarbre (1905) et Fortineau (1910) pour le bacille pyocyanique et sa toxine ; par Gundel et Khewe pour le *B. coli* (1932) et récemment par A. Besredka pour le streptocoque à l'égard du deuxième vaccin charbonneux. Ils témoignent à la fois du déséquilibre végétatif que subissent les bactériidies pendant les premières heures de leur séjour dans le tissu inoculé, et de la rapidité avec laquelle s'installe autour d'elles et intervient la réaction protectrice. Nous verrons plus loin que la courte trêve de quelques heures ainsi accordée à ces germes virulents avant que leur développement soit inhibé par l'inflammation locale, suffit pour qu'ils mettent en œuvre des processus immunitaires durables, d'une réelle efficacité.

IV. — Réceptivité du lapin et du cobaye aux bactériidies inoculées à travers un foyer inflammatoire.

S'il est difficile d'accepter sans réserve l'opinion de A. Besredka selon laquelle « en dehors de la peau, la bactériidie se comporte comme un germe saprophyte », et que, si elle pénètre dans l'organisme du lapin et du cobaye sans contaminer la moindre blessure du tégument « elle est aussitôt phagocytée et digérée », on ne peut contester que le tissu conjonctif lâche et surtout la séreuse péritonéale opposent une résistance manifeste au développement du charbon. Le degré de cette résistance se traduit par ces faits que la dose minima mortelle est 4 ou 5 fois plus élevée pour l'infection

par voie sous-cutanée que pour l'infection par voie intradermique, et que nombre de cobayes peuvent tolérer sans dommage 0 c. c. 1 de deuxième vaccin charbonneux dans le péritoine quand on prend la précaution de pratiquer l'inoculation sans léser la peau.

La démonstration, fournie précédemment, que les bactériidies, inoculées même à dose massive dans un foyer inflammatoire datant de vingt-quatre heures, sont détruites sur place sans produire le moindre signe de charbon, nous donnait le moyen de résoudre au mieux le problème posé par Besredka, et qui consiste à « faire pénétrer le virus dans le tissu sous-cutané sans toucher à la peau » ou, du moins, sans toucher les régions saines et réceptives de la peau. Il suffisait pour cela de créer un foyer inflammatoire dans le tégument — donc une zone insensible au charbon — et, en la traversant en ce point, au moyen d'une fine aiguille, d'injecter dans le tissu conjonctif sous-cutané, dans une séreuse ou dans une veine, des quantités de bactériidies sûrement mortelles sans cette précaution.

EXPÉRIENCE XVII. — On injecte à 24 cobayes, dans la peau de la région abdominale, 1 cent. cube de toxine staphylococcique diluée à 1 p. 1.000.

Le lendemain, 8 d'entre eux reçoivent au même point 0 c. c. 2 d'une dilution à 1 p. 50.000 d'une culture de bactériidie en bouillon âgée de vingt-quatre heures. *7 résistent et 1 meurt de charbon.*

En même temps, on inocule la même dose de la même culture aux 16 autres cobayes en enfonçant l'aiguille à travers le foyer inflammatoire pour injecter le liquide à environ 5 centimètres de la piqûre, en évitant de léser la couche profonde du derme. *14 meurent et 2 résistent.*

Il est à noter que l'œdème charbonneux s'est développé dans tous les cas, non dans la région traversée par l'aiguille, mais au lieu même où avait été injecté le liquide virulent.

Sur 12 cobayes non préparés qui avaient reçu sous la peau la même dose de bactériidies, 11 sont morts de charbon, 1 a résisté.

EXPÉRIENCE XVIII. — Deux lapins sont préparés par une injection de 1 cent. cube de toxine staphylococcique à 1 p. 1.000 dans la peau de la face externe de l'oreille, près du bord externe. Le lendemain on leur injecte dans la veine auriculaire, à travers le foyer inflammatoire, 0 c. c. 01 d'une culture en bouillon de bactériidie, âgée de vingt-quatre heures, soit 400 doses mortelles par voie dermique. *Un meurt de charbon en soixante-six heures, l'autre résiste.*

Un lapin témoin, inoculé par voie veineuse à travers la peau saine, est mort charbonneux en soixante-six heures.

EXPÉRIENCE XIX. — Deux lapins sont préparés par une injection, dans la peau de l'abdomen, de 1 cent. cube de toxine staphylococcique à 1 p. 1.000. Le lendemain, on leur inocule dans la cavité péritonéale, à travers le foyer inflammatoire, 0 c. c. 01 de la même culture de bactériidie ; un lapin témoin reçoit la même inoculation intrapéritonéale à travers la peau saine. *Les deux animaux ainsi préparés résistent, le témoin meurt charbonneux en soixante-six heures.*

EXPÉRIENCE XX. — Sept lapins reçoivent dans la peau du flanc 1 cent. cube de toxine staphylococcique à 1 p. 1.000. Le lendemain on leur inocule, sous la peau, en traversant le foyer inflammatoire au moyen d'une longue aiguille, 1 cent. cube d'une dilution à 2 p. 1.000 (80 doses mortelles par voie dermique) de culture en bouillon de bactériidie âgée de vingt-quatre heures. *1 meurt de charbon en soixante-six heures, les 6 autres résistent.*

La même expérience a été répétée en portant la dose infectante à 1 cent. cube d'une dilution de la même culture de bactériidie à 1 p. 100 (5 lapins), soit 400 doses mortelles par voie dermique et à 1 cent. cube d'une dilution à 1 p. 10 (2 lapins), soit 4.000 doses mortelles par voie dermique. *Les animaux inoculés sous la peau à travers un foyer inflammatoire créé la veille ont résisté, sauf un du premier lot et un du second qui sont morts de charbon en cinquante-quatre et soixante-douze heures.* Tous les témoins, qui avaient reçu à travers la peau saine 1 cent. cube d'une dilution de la même culture à 1 p. 10.000 (2 lapins) ou 1 cent. cube d'une dilution à 1 p. 1.000 (1 lapin), ou 1 cent. cube d'une dilution à 1 p. 500 (6 lapins), sont morts de charbon en cinquante à soixante-douze heures, sauf un du dernier lot.

Sept lapins de ces deux expériences ayant ainsi reçu sous la peau, dix-sept ou vingt-trois jours auparavant, 80 doses mortelles (3 lapins), 400 doses mortelles (3 lapins), ou 4.000 doses mortelles de bactériidies (1 lapin), ont été éprouvés par l'inoculation intradermique de 4 doses mortelles des mêmes germes : *4 sont morts de charbon en quatre-vingt-seize heures (3) et cent vingt heures (1) avec un retard de vingt-quatre ou quarante-huit heures sur les témoins.*

Les 3 survivants ont reçu dix jours après 8 doses mortelles par voie dermique. *Ils sont morts de charbon en quatre jours.*

Les expériences portant sur le cobaye sont donc défavorables à l'hypothèse de Besredka qui représente la peau comme le seul tissu réceptif au charbon. Celles qui ont été effectuées sur le lapin lui apportent, au contraire, une évidente confirmation en démontrant qu'il suffit de protéger la peau au moyen d'un foyer inflammatoire, créé la veille au lieu même de l'inoculation virulente, pour que l'infection échoue dans la grande majorité des cas, quelle que soit la voie adoptée pour l'épreuve réelle : sous-cutanée, péritonéale, veineuse.

Nous pensons que la réceptivité particulière et apparemment exclusive de la peau du lapin est liée non pas à l'existence de cellules spéciales, mais à la texture du tégument qui permet aux bactériidies inoculées de végéter et de s'encapsuler à l'abri de toute action nocive, puis de se multiplier et de triompher par le nombre des effets bactéricides que les humeurs normales risqueraient d'exercer sur elles, comme cela se produit quand les germes sont introduits directement dans le tissu conjonctif sous-cutané, le péritoine ou le sang.

V. — Inoculation de bactériidies en suspension dans une solution de saponine ou dans un foyer inflammatoire provoqué par une injection de saponine.

L'emploi de solutions saponinées comme excipient pour les vaccins anticharbonneux a été préconisé par M. Mazucchi en 1929, puis par C. Hruska en 1931. Ces vaccins sont constitués soit par des bactériidies filamenteuses et des spores de virulence normale, soit par des bactériidies un peu moins atténuées que le deuxième vaccin de Pasteur. Les germes, récoltés sur gélose, sont mis en suspension dans des solutions de saponine dont le titre fut graduellement abaissé de 20 p. 100 à 1 p. 100.

Injectées sous la peau du lapin, les solutions les plus concentrées de saponine provoquent en quelques heures une vive réaction inflammatoire œdémateuse, qui se condense rapidement et aboutit parfois à la production d'une eschare. Mazucchi supposait que les bactériidies inoculées avec ces solutions irritantes sont immobilisées dans la réaction locale, puis résorbées peu à peu. La lenteur de leur résorption devait leur permettre d'exercer au maximum leur action antigénique et d'engendrer une immunité très efficace sans le moindre risque de généralisation. Lorsque la réaction due à la saponine est trop forte et qu'elle évolue vers la nécrose ou l'abcédation, les bactériidies trouvent dans le tissu mortifié un milieu si propice à leur végétation et à leur encapsulation, qu'elles peuvent alors produire un charbon mortel.

Les animaux qui échappent à cette infection n'acquièrent

aucune immunité (1 lapin sur 14 d'après A. Staub). Au contraire, si, en abaissant le taux du glucoside à 5 et même à 2 et 1 p. 100, on diminue proportionnellement l'intensité de la réaction qu'il détermine dans le tissu conjonctif sous-cutané, on obtient régulièrement la production d'une solide résistance spécifique. Selon P. Homutov, le développement de cette immunité serait favorisé « non par l'inflammation œdémateuse post-vaccinale, mais par la présence de la saponine adsorbée à la surface des germes injectés. En raison de sa présence, les germes ne pullulent que progressivement, permettant ainsi à l'organisme de fabriquer les anticorps spécifiques ». Pour plus de sécurité, cet auteur recommande de n'utiliser pour la préparation des vaccins saponinés, que la souche du deuxième vaccin de Pasteur, dont le degré d'atténuation est fixe.

De notre côté, nous avons essayé de voir comment se comportent, chez le lapin, au point de vue de l'infection et, éventuellement, au point de vue de l'immunité, les cultures de bactériidies virulentes inoculées directement dans la peau en mélange avec une solution de saponine ou dans un foyer inflammatoire provoqué vingt-quatre heures auparavant par une injection intracutanée de la même solution.

EXPÉRIENCE XXI. — A. Deux lapins reçoivent dans la peau de l'abdomen, 0 c. c. 2 d'un mélange en parties égales d'une solution de saponine à 4 p. 100 et d'une culture en bouillon de bactériidies virulentes âgée de vingt-quatre heures, soit 4.000 doses mortelles. *Les deux animaux ont résisté.*

B. Sur 4 autres lapins qui avaient reçu également dans la peau 0 c. c. 4 d'un mélange en parties égales de la même solution de saponine et de la même culture virulente, soit 8.000 doses mortelles, *2 ont résisté et 2 ont contracté le charbon.*

EXPÉRIENCE XXII. — A. Deux lapins reçoivent dans la peau d'abord 0 c. c. 5 de solution de saponine à 2 p. 100, puis le lendemain, au même point, 8.000 doses mortelles de bactériidies virulentes dans 0 c. c. 2 de bouillon. *Les deux animaux ont résisté.*

B. Deux autres lapins auxquels on avait injecté sous la peau d'abord 0 c. c. 5 de solution de saponine à 2 p. 100 et le lendemain sous la peau, et au même point, 8.000 doses mortelles de bactériidies *ont également échappé au charbon.*

Dans la suite, treize jours plus tard, les 6 animaux de l'expérience XXI A et ceux de l'expérience XXII A et B ont été éprouvés par inoculation intradermique de 4 doses mortelles de culture en bouillon de bactériidies.

Les 2 lapins de l'expérience XXI A, qui avaient reçu 4.000 doses mortelles de bactériidies en suspension dans une solution de saponine *ont résisté*.

Les 2 lapins de l'expérience XXII A, qui avaient résisté à l'inoculation de 8.000 doses mortelles de bactériidies dans un foyer inflammatoire de la peau *sont morts de charbon*, l'un en quatre-vingt-dix-neuf heures, l'autre en quatre-vingt-quatre heures, soit vingt-quatre ou trente-six heures seulement après les témoins.

Des 2 lapins de l'expérience XXII B, qui avaient résisté à la même inoculation faite par voie *sous-cutanée*, *1 a résisté, l'autre est mort de charbon en quatre-vingt-quatre heures*.

Douze jours après cette épreuve, les lapins survivants reçurent par voie dermique, 8 doses mortelles de la même culture virulente. *Tous sont morts de charbon* à peu près dans les mêmes délais que les lapins témoins.

Ainsi la vive réaction que la solution de saponine à 2 p. 100 provoque dans le derme ou le tissu conjonctif du lapin a pour effet d'empêcher le développement des bactériidies inoculées dans la région enflammée. A ce point de vue, la saponine agit comme les solutions irritantes et les suspensions microbiennes que nous avons étudiées au début de ce travail.

La destruction silencieuse, sur place, d'un grand nombre de germes virulents ne s'accompagne que d'une immunité médiocre, la moitié des lapins tolèrent alors 4 doses mortelles de bactériidies par voie dermique, mais ils succombent au charbon quand on double cette dose.

VI. — L'infection inhibée par une réaction inflammatoire engendre-t-elle l'immunité ?

Les exemples suivants font encore mieux apparaître que, chez les lapins qui ont reçu des doses variables, parfois très importantes, de bactériidies virulentes dans un foyer inflammatoire de la peau *datant de vingt-quatre ou quarante-huit heures*, on ne constate ultérieurement qu'une immunité très faible ou même aucune immunité contre le charbon (tableau I).

TABLEAU I.

NATURE DE LA SUBSTANCE injectée	NOMBRE de doses mortelles inoculées dans le foyer	INTERVALLE entre l'inoculation et l'épreuve en jours	NOMBRE de doses mortelles (épreuve dermique)	RÉSULTATS
Tuberculine à 1 p. 5	20	17	20	Mort en 40 heures.
	20	17	20	Mort en 40 heures.
	20	17	20	Mort en 72 heures.
	400	17	8	Mort en 66 heures.
	400	17	4	Mort en 36 heures.
Toxine staphyl. à 1 p. 1.000. .	40.000	10	4	Mort en 6 jours.
	40.000	10	4	Résiste (1).
	40.000	10	4	Résiste (1).
	8.000	17	8	Mort en 78 heures.
	8.000	17	4	Mort en 36 heures.
	8.000	17	4	Résiste (2).
<i>B. coli</i> tué	20	17	8	Mort en 84 heures.
	Puis 400			
	20	17	4	Mort en 36 heures.
	Puis 400			
Bouillon	400	17	4	Mort en 8½ heures.
Gélose à 2 p. 1.000	8.000	12	4	Mort en 48 heures.
	8.000	12	4	Mort en 66 heures.
	8.000	12	4	Mort en 48 heures.
	8.000	12	4	Résiste.
	8.000	12	4	Mort en 66 heures.
	8.000	12	4	Mort en 84 heures.
	8.000	12	4	Résiste.
Alun à 3 p. 100.	8.000	12	4	Mort en 120 heures.

1) Ces deux lapins ont été réinoculés dans la suite, de dix en dix jours avec 8, 40 et enfin 400 doses mortelles: l'un est mort après la dernière inoculation, l'autre a résisté.

2) Epruvé 15 jours plus tard par inoculation intradermique de 8 doses mortelles de bactériidies, meurt de charbon.

Quand les bactériidies sont inoculées *dans le derme*, en mélange avec la substance inflammatoire, les modifications immunitaires qui font suite à la destruction sur place des germes virulents sont beaucoup plus importantes et se traduisent ultérieurement par une résistance plus énergique aux réinfections (tableau II). De récents travaux de G. Ramon et A. Staub ont d'ailleurs montré que l'inoculation *sous-cutanée* de spores charbonneuses atténuées, en suspension dans une solution d'alun à 1 ou 3 p. 100 et de gélose à 2 p. 1.000, con-

TABLEAU II.

NATURE de la substance injectée	NOMBRE de doses mortelles inoculées dans le foyer	INTERVALLE entre l'inoculation et l'épreuve en jours	NOMBRE de doses mortelles (épreuve dermique)	RÉSULTATS
Staphylocoques vivants.	400 100	14 14	1 4	Résiste puis meurt d'infection intercurrente. Résiste (1).
<i>B. coli</i> vivant	400	14	4	Mort en 78 heures.
<i>B. coli</i> tué	8 8	14 14	4 8	Résiste (2). Mort en 66 heures.

(1) Réinoculé 7 jours après avec 8 doses mortelles, résiste. Réinoculé 13 jours après avec 40 doses mortelles, meurt de charbon.

(2) Réinoculé 18 jours après avec 8 doses mortelles, meurt de charbon. Tous les témoins inoculés avec les mêmes doses de bactériidies par voie dermique sont morts en 72 heures.

fèrent au lapin et au mouton une immunité nettement supérieure à celle qu'engendrent les suspensions des mêmes germes en eau physiologique. L'application de ce procédé à la vaccination du bétail donne les meilleurs résultats dans la prophylaxie du charbon bactérien.

Enfin, la valeur de l'immunité ainsi acquise croît encore lorsque la substance inflammatoire est injectée dans la peau, quatre ou six heures après l'inoculation virulente. Par exemple, 3 de nos lapins qui avaient résisté à l'inoculation intradermique de 4 doses mortelles grâce à l'injection faite six heures après, au même point, de 0 c. c. 5 d'une suspension de staphylocoques vivants, ont toléré, quinze jours plus tard, une inoculation intradermique de 4 doses mortelles de bactériidies. L'un est mort dans la suite d'une infection intercurrente, les deux autres ont reçu de dix en dix jours, dans la peau, d'abord 8 doses, puis 40, 400 et enfin 8.000 doses mortelles des mêmes germes. En dehors d'un léger œdème qui se développa quelques heures après l'inoculation, cette dernière épreuve massive est restée sans effet.

Il ressort de tous ces faits que la production de l'immunité anticharbonneuse est bien liée, comme le pensaient G. Ramon

et A. Staub, à l'imprégnation de l'organisme par des substances antigéniques issues des bactériidies et libérées dès les premières heures de leur séjour dans le derme ou le tissu conjonctif, à la faveur des réactions cellulaires qui surviennent autour d'elles. Si ces réactions sont trop précoces ou d'emblée trop intenses, la destruction des germes est trop rapide et trop complète pour mettre en jeu le mécanisme immunitaire. Si elles interviennent moins brutalement ou plus lentement, elles s'accompagnent alors d'une résistance assez efficace pour que les animaux supportent sans dommage l'inoculation d'une petite quantité de bactériidies très virulentes. L'immunité se développe dans toute son ampleur quand on adopte la voie sous-cutanée pour l'injection de bactériidies atténuées en suspension dans un liquide légèrement irritant, comme dans l'expérience de Ramon et Staub, ou quand on inocule les germes virulents quelques heures après la substance inflammatoire, comme dans les expériences de Blagovetschensky, de Besredka et celles que nous venons de résumer.

VII. — Sort des bactériidies inoculées dans un foyer inflammatoire.

Les constatations qui précèdent font nettement ressortir que les bactériidies inoculées dans un foyer inflammatoire sont, non seulement inhibées dans leur végétation, mais réellement détruites, puisque leurs effets pathogènes ne s'y manifestent plus, même après une période d'observation de plusieurs semaines. Il ne s'agit donc pas d'un simple obstacle que les réactions cellulaires et humorales opposeraient temporairement à la prolifération microbienne, mais d'une action bactéricide certaine dont nous allons essayer de déterminer le mécanisme.

EXPÉRIENCE XXIII. — On provoque la formation d'un foyer inflammatoire dans la peau de plusieurs lapins en leur injectant 0 c. c. 5 de toxine staphylococcique diluée à 1 p. 1.000 ; le lendemain on leur inocule au même point, 0 c. c. 2 de culture en bouillon de bactériidies virulentes âgée de vingt-quatre heures, soit 1.000.000 de germes

environ. Puis, après des temps variés, on sacrifie ces animaux et on ensemence 10 cent. cubes de leur sang sur gélose en boîtes de Petri. On prélève aseptiquement un fragment de leur foie (2 ou 3 grammes), la rate entière et le fragment de peau inoculé, préalablement lavé à l'alcool et légèrement flambé ; on broie séparément tous ces prélèvements avec du sable stérile, on les met en suspension dans 3 ou 4 cent. cubes de bouillon et on les ensemence en totalité sur de la gélose coulée dans des boîtes de Petri, à raison de 2 boîtes par échantillon. Les résultats de ces ensemencements sont indiqués dans le tableau III.

TABLEAU III.

INTERVALLE entre l'inoculation et le prélèvement	NOMBRE DE COLONIES			
	Sang	Foie	Rate	Peau
30 minutes	0	0	0	∞
6 heures	0	0	0	∞
24 heures	0	0	0	25
48 heures	0	0	0	26
5 jours	0	0	0	55
8 jours				16
12 jours				8

∞ , colonies incomptables.

Les cultures de sang, de rate et de foie, sont toujours restées négatives, ce qui indique que, réserves faites pour la migration éventuelle de quelques germes, dans les voies lymphatiques adjacentes, les bactériidies virulentes inoculées dans un foyer d'inflammation sont retenues et fixées au lieu même où elles ont été introduites, alors qu'en peau saine elles se disséminent dès les premières heures dans les ganglions lymphatiques du voisinage, puis dans la circulation sanguine.

Or, si l'ensemencement des foyers cutanés où s'abritent les bactériidies donne, jusqu'à la sixième heure après l'inoculation, une végétation très abondante, au contraire, les cultures faites à partir de la vingt-quatrième heure ne fournissent plus que de rares colonies dont le nombre ne subira que de faibles modifications jusqu'au douzième jour au minimum (2). Très rapidement, de la sixième à la vingt-quatrième heure, il se produit donc sur place une destruction brutale et massive qui ne laisse intacts que quelques germes.

(2) Il est facile de distinguer les colonies de bactériidies des quelques colonies de staphylocoques qui les accompagnent presque inévitablement.

Bien qu'elles soient incapables de tuer leur hôte même à longue échéance, les bactéridies qui persistent environ deux semaines au lieu de l'inoculation, sont encore assez vivaces pour engendrer un charbon mortel chez les lapins auxquels on injecte une suspension du tissu qui les contient. Il faut alors supposer qu'elles ne se montrent inoffensives pour le porteur que parce qu'elles sont non pas incluses dans le foyer, mais extérieures à la peau et disséminées dans les anfractuosités du système glandulaire ou du système pileux.

Mais, si une réaction inflammatoire banale de la peau est susceptible de produire ainsi, en quelques heures, la destruction d'un million de germes aussi virulents que la bactéridie charbonneuse employée et aussi résistants que les spores qui accompagnent les éléments filamenteux, la question se pose de savoir si, selon l'hypothèse générale de Metchnikoff, cette destruction a lieu dans les cellules phagocytaires qui envahissent la zone enflammée, ou si elle s'opère en dehors de ces cellules, sous l'influence des principes bactéricides contenus dans la lymphe exsudée.

Pour essayer de répondre à cette question, nous avons fait l'expérience que voici :

EXPÉRIENCE XXIV. — On inocule par voie dermique à plusieurs lapins, dans la même région, la même dose de bactéridies (0 c. c. 2 d'une culture en bouillon de vingt-quatre heures), aux uns dans la peau normale, aux autres dans un foyer inflammatoire créé la veille par une injection de 1 cent. cube de toxine staphylococcique diluée à 1 p. 1.000. Puis, après des délais variés, on ponctionne le tissu inoculé au moyen d'une pipette très effilée ; on étale sur lame la goutte de lymphe ainsi prélevée et on la colore au Giemsa ou au bleu de méthylène alcalin.

Dans la sérosité des animaux inoculés en peau saine, les bactéridies, aisément décelables, sont pour la plupart entourées d'une capsule ; au contraire, la sérosité des animaux inoculés dans un foyer inflammatoire ne contient aucun germe encapsulé. Il vient alors à l'esprit, en accord avec l'opinion courante, que, chez les premiers, les bactéridies protégées contre l'englobement phagocytaire par la capsule dont elles se sont enveloppées, vont continuer à proliférer librement pour pénétrer ensuite dans la lymphe efférente et

par l'intermédiaire du sang, se répandre dans tous les organes. Chez les seconds, les germes restés nus seraient exposés à devenir la proie des leucocytes et à être détruits sur place.

En vérité, l'encapsulation peut rendre la phagocytose inefficace, mais elle ne réussit pas à protéger la bactériémie contre l'action nocive du milieu ambiant. L'expérience nous a permis de constater, en effet, que si on inocule dans un foyer inflammatoire datant de la veille, des bactériemies encapsulées, provenant d'une culture âgée de vingt-quatre heures en sang citraté de lapin, ces germes, réputés non phagocytés, se comportent comme les germes nus dans les mêmes circonstances ; ils subissent les mêmes effets destructeurs, et l'infection qu'ils produisent si facilement et si rapidement en peau saine est presque toujours mise en échec (tableau IV).

TABLEAU IV.

DOSE DE TOXINE staphylococcique à 1 p. 1.000 injectée la veille (cent. cube)	INTENSITÉ de la réaction locale à la toxine	DOSE DE CULTURE de bactériemies encapsulées inoculée dans le foyer	RÉSULTATS
1	Forte.	0 c. c. 2 à 1 p. 1.000 (400 germes).	Résiste.
1	Forte.	0 c. c. 2 à 1 p. 1.000 (400 germes).	Résiste.
1	Forte.	0 c. c. 2 à 1 p. 10 (40.000 germes).	Résiste.
1	Presque nulle.	0 c. c. 2 à 1 p. 10 (40.000 germes).	Mort de charbon en 96 heures.
0 (témoin)		0 c. c. 2 à 1 p. 1.000 (400 germes).	Mort de charbon en 72 heures.
0 (témoin)		0 c. c. 2 à 1 p. 10 (40.000 germes).	Mort de charbon en 96 heures.

Des faits analogues se produisent d'ailleurs chez les lapins solidement vaccinés au moyen de souches œdématogènes et atténuées de bactériemies, puis éprouvés par inoculation de quantités croissantes de bactériemies virulentes et finalement par inoculation intradermique d'une forte dose (0 c. c. 2) de ces germes.

Chez les animaux ainsi préparés, nous avons observé, vers la sixième heure après la dernière épreuve, la formation

d'un œdème, au lieu même de l'inoculation. Le plasma exsudé en ce point contenait un très grand nombre de leucocytes entre lesquels on distinguait des chaînettes de bactériidies bordées d'une mince capsule. Dans cette circonstance, comme dans la précédente, les bactériidies encapsulées ne sont pas englobées par les phagocytes ; elles restent libres, et cependant elles n'exercent pas leur activité pathogène habituelle : peu à peu elles disparaissent et l'infection d'épreuve avorte.

ACTION BACTÉRICIDE DU LIQUIDE D'ŒDÈME INFLAMMATOIRE.

La découverte par Fodor (1887) des propriétés bactéricides du sang défibriné de lapin est une des plus anciennes acquisitions de l'immunologie. Les recherches dont elles ont été l'objet dans la suite sont à l'origine de nos connaissances sur l'alexine (Nuttall 1888, H. Buchner 1889) ; elles devaient aboutir à la démonstration capitale de J. Bordet concernant la coopération de ce principe naturel et d'un principe humoral acquis, la sensibilisatrice, dans les phénomènes de l'hémolyse et de la bactériolyse par les sérums. Depuis, elles ont retenu l'attention d'un grand nombre de chercheurs et, récemment, G. Sanarelli et A. Alessandrini (1932) insistaient encore sur ce fait que la sérosité péritonéale du lapin entrave la germination des spores charbonneuses *in vitro* et qu'elle détruit graduellement *in vitro* et *in vivo* les bactériidies filamenteuses.

L'insuffisance de l'action phagocytaire des leucocytes que nous avons constatée dans la destruction sur place des bactériidies inoculées au sein d'un foyer inflammatoire devait nous orienter, pour l'explication de ce phénomène, vers l'étude des propriétés bactéricides du liquide exsudé dans la zone tégumentaire irritée.

En premier lieu, nous avons cherché à obtenir des quantités assez importantes d'une telle lymphé. A cette fin, nous avons adopté la technique préconisée par A. Borrel pour la récolte de la lymphé claveléuse, et qu'une longue pratique nous a rendue familière à tous deux.

Nous avons donc injecté à des lapins, sous la peau de l'abdomen, de 10 à 30 cent. cubes de dilution à 1 p. 1.000 de toxine staphylococcique, répartie sur une surface aussi grande que possible. Le lendemain, tout le tissu conjonctif sous-cutané, enflammé par la toxine, est distendu par un œdème abondant. On sacrifie l'animal et, au niveau de la région œdématisée, on découpe un large volet dans la peau préalablement aseptisée; on excise le tissu conjonctif gonflé de liquide clair, jaune citrin et on le recueille dans un verre conique, avec la lymphe prélevée au moyen d'une forte pipette stérile. On laisse ces produits pendant vingt-quatre heures à la glacière, puis on décante le liquide exsudé et on le répartit dans de petits tubes stériles, à raison de 0 c. c. 75 par tube. Immédiatement après cette répartition, on ajoute, sous le volume constant d'une goutte, à chacun des tubes, sauf un qui servira de contrôle de stérilité, une quantité déterminée de bactériidies provenant d'une culture en bouillon âgée de vingt-quatre heures. On agite soigneusement et on porte à l'étuve. Après des délais variés, cinq minutes, six heures, vingt-quatre heures, on ensemence séparément sur gélose, une goutte de chaque tube prélevée avec la même anse de platine. A la quarante-huitième heure, le contenu des tubes est ensemencé en totalité sur de la gélose coulée en boîtes de Petri.

Le nombre des colonies de bactériidies qui se développent à 37° sur ces milieux est compté le lendemain de l'ensemencement.

Les tableaux V et VI résument toute une série d'expériences comparatives, effectuées non seulement avec des liquides d'œdème tels quels ou centrifugés, ou chauffés pendant trente minutes à 56°, provenant de lapins différents ou

TABLEAU V.

NATURE DU PRODUIT ÉTUDIÉ	NOMBRE de bactériidies ensemencées	NOMBRE DE COLONIES fournies par l'ensemencement des produits après un contact de			
		5 min.	6 h.	24 h.	48 h.
Sang défibriné de lapin.	800	+	6	∞	
	80	1	2	∞	
Sérum frais de lapin.	800	6	0	0	0
	80	0	0	0	0
Liquide d'œdème de lapin A . . .	800	0	0	0	0
	80	0	0	0	0
Liquide d'œdème de lapin B . . .	3.000	0	0	0	
	300	0	0	0	
Même liquide B centrifugé . . .	3.000	0	0	0	
	300	0	0	0	
Même liquide B chauffé.	3.000	0	0	0	
	300	0	0	0	
Bouillon ordinaire	800	0	36	∞	
	80	0	2	∞	

TABLEAU VI.

NATURE DU PRODUIT ÉTUDIÉ	NOMBRE de bactériidies ensemencées	NOMBRE DE COLONIES fournies par l'ensemencement des produits après un contact de			
		5 min.	6 h.	24 h.	48 h.
Sérum frais de lapin	30.000	10	0	0	0
	300	1	0	0	0
Liquide d'œdème frais de lapin .	30.000	6	0	0	0
	300	1	0	0	0
Liquide d'œdème chauffé de lapin.	30.000	4	0	∞	∞
	300	1	0	0	0
Sérum frais de cobaye	30.000	53	∞	∞	
	300	4	1 1/2	∞	
Sérum chauffé de cobaye	30.000	23	∞	∞	
	300	0	400	∞	
Liquide d'œdème frais de cobaye.	30.000	26	12	∞	
	300	3	3	Infecté.	

de cobayes, mais encore avec le sang défibriné et le sérum de ces animaux.

Pour mieux apprécier la rapidité avec laquelle s'opère la destruction des bactériidies, nous avons ensemencé deux séries de 3 tubes contenant chacun 0 c. c. 75 de liquide d'œdème frais de lapin, l'une avec 4.000 bactériidies, l'autre avec 400 bactériidies provenant de la même culture en bouillon âgée de vingt-quatre heures. Les mélanges ont été soigneusement agités et, après cinq minutes, trois heures, et sept heures, le contenu d'un tube de chaque série a été ensemencé en boîte de Petri. Les résultats des cultures ont été les suivants :

Pour la série des 4.000 germes :

Laissés en contact 5 minutes	3.200 colonies.
Laissés en contact 3 heures	35 —
Laissés en contact 7 heures	8 —

Pour la série des 400 germes :

Laissés en contact 5 minutes	20 colonies.
Laissés en contact 3 heures	3 —
Laissés en contact 7 heures	0 —

La destruction des bactériidies par le liquide d'œdème de

lapin est aussi rapide quand il s'agit de germes encapsulés (tableau VII).

TABLEAU VII.

NOMBRE DE BACTÉRIDIES encapsulées ensemencées dans 0 c. c. 75 de liquide d'œdème frais de lapin	NOMBRE DE COLONIES tournées par l'ensemencement de ce liquide après un contact de			
	5 minutes	6 heures	24 heures	48 heures
300.000 (1)	150	0	0	0
3.000 (1)	5	0	0	0
3.000 (2)	0	0	0	0

(1) Les bactériidies ensemencées provenaient d'une culture âgée de 24 heures en sérum de cobaye chauffé. Tous les germes étaient entourés d'une belle capsule.

(2) Les bactériidies provenaient d'un liquide d'œdème charbonneux de lapin; elles étaient toutes encapsulées.

Toutes ces constatations faites les unes sur l'animal même, les autres *in vitro* concourent à démontrer que le sort des bactériidies inoculées dans un foyer inflammatoire, est réglé par les propriétés bactéricides de l'exsudat épanché en ce point.

Chez les lapins immuns, les manifestations prémonitoires de la résistance semblent consister, lors de l'inoculation virulente d'épreuve, dans le développement, au lieu de l'infection, d'une *réaction exsudative précoce qui s'apparente aux réactions accélérées de surinfection* obtenues chez les animaux atteints de maladies allergisantes*. De même que la réaction inflammatoire provoquée chez les animaux normaux par l'injection de substances irritantes, cette réaction a pour effet d'immobiliser les germes inoculés, de les localiser et de les préparer à subir au maximum l'action destructive des principes bactéricides normaux, renforcés par les anticorps acquis que contient le plasma épanché dans le foyer.

* Des réactions de type allergique ont déjà été signalées par E. Rivalier (*Thèse médecine*, Paris 1924, p. 145) et surtout par D. Combiesco (*C. R. Soc. de Biol.* 1929, **102**, p. 128) chez des cobayes préparés par des inoculations intradermiques de bactériidies atténuées.

VIII. — Immunité paraspécifique au charbon engendrée par la tuberculose.

Toshi Hirayama (1930) a fait cette constatation, confirmée et précisée par C. Ninni et T. de Sanctis Monaldi, que les cobayes tuberculeux ou vaccinés par le BCG depuis quatre semaines au minimum, sont nettement moins réceptifs que les cobayes neufs à l'infection bactérienne.

Les lapins tuberculeux ou rendus allergiques par une inoculation de bacilles humains vivants, de BCG ou de bacilles morts, datant de six semaines au moins, manifestent également, selon nos propres observations, cette sorte de résistance paraspécifique. Mais, en général, cette résistance est assez médiocre et son efficacité ne dépasse guère celle qui accompagne l'infection escamotée par une réaction inflammatoire banale (tableau VIII). Le mécanisme dont elle procède est encore plus obscur ; on peut cependant supposer que l'obstacle apporté au développement des bactéries dans le tégument des animaux préparés par une inoculation de bacilles tuberculeux résulte de la mise en jeu, au lieu même de l'épreuve, de réactions tissulaires, rendues assez intenses d'emblée du fait de l'hypersensibilité engendrée par le bacille tuberculeux.

Sous cet aspect, l'ébauche d'immunité que ces animaux acquièrent à l'égard du charbon serait liée à l'intervention de principes humoraux identiques à ceux qui opèrent dans les foyers inflammatoires. Bien que l'expérience nous ait montré que la désensibilisation préalable des cobayes tuberculeux par un traitement prolongé à la tuberculine ne diminue pas leur résistance au charbon, il nous paraît très vraisemblable d'admettre que cette résistance relève de l'allergie non spécifique conférée par le bacille de Koch (3).

(3) Au sujet de l'allergie non spécifique des cobayes tuberculeux, consulter les travaux de Paul Bordet (1936).

TABLEAU VIII. — **Résistance au charbon des lapins tuberculeux ou rendus allergiques par des injections de bacilles morts ou de bacilles atténués.**

NOMBRE de doses mortelles de bactériidies inoculées	DURÉE de l'infection charbonneuse en heures	DURÉE de la survie après la mort des témoins en heures	TYPES DES BACILLES INOCULÉS	ASPECT des lésions tuberculeuses
20	48	0	10 milligr. bacilles humains tués, par voie veineuse.	Aucune lésion.
20	96	+ 48	20 milligr. bacilles humains tués, par voie veineuse.	Id.
20	<i>Survit</i> (1).		Id.	Id.
40	96	+ 48	20 milligr. bacilles bovins tués, par voie veineuse.	Id.
40	96	+ 48	Id.	Id.
40	96	+ 48	Id.	Id.
40	96	+ 48	Id.	Id.
8	72	+ 24	10 milligr. BCG par voie vei- neuse.	Id.
8	72	+ 24	Id.	Id.
8	48	0	Id.	Id.
20	<i>Survit.</i>		0 milligr. 4 bacilles humains vivants par voie veineuse.	Id.
20	84	+ 36	0 milligr. 4 bacilles humains virulents pour le lapin, même voie.	Nombreux nodules pulmonaires.
8	36	— 42	Id.	Id.
8	84	+ 36	Id.	Id.
8	84	+ 36	0 milligr. 01 mêmes bacilles, même voie.	Id.
8	72	+ 24	Id.	
8	72	+ 24	Id.	
8	72	+ 24	1 milligr. mêmes bacilles, voie sous-cutanée.	Aucune lésion.
8	72	+ 24	Id.	Id.
8	84	+ 36	0 milligr. 4 bacilles humains atténués (R1) voie veineuse.	Id.
8	60	+ 42	Id.	Id.
8	60	+ 42	Id.	Id.
8	84	+ 36	Id.	Id.
8	36	0	1 milligr. bacilles humains atténués (R1) voie veineuse.	Id.
8	96	48	Id.	Id.
8	72	24	10 milligr. bacilles humains atténués (R1) voie veineuse.	Id.
4	<i>Survit.</i>		0 milligr. 01 bacilles bovins virulents voie veineuse.	Tuberculose gé- néralisée.
8	80	42	Id.	Id.
8	72	24	Id.	Id.

(1) Réinfecté 23 jours plus tard avec la même dose de bactériidies, ce lapin est mort de charbon.

Sur 23 cobayes qui avaient reçu une dose mortelle de bactériidies, alors qu'ils étaient atteints de tuberculose très avancée, due à un bacille humain, 20 sont morts entre le troisième et le huitième jour avec, pour quelques-uns, un retard peu important sur les témoins ; 3 seulement ont survécu.

Enfin, 5 cobayes tuberculeux, éprouvés comme les précédents, mais à un stade beaucoup moins avancé, sont morts de charbon dans les mêmes délais que les témoins.

Résumé et conclusions.

Chez le lapin, l'inoculation de doses quelconques de bactériidies virulentes reste sans effet quand elle est effectuée dans une région enflammée de la peau. La résistance tissulaire ainsi conférée par la réaction inflammatoire est strictement locale. Très marquée dans les vingt-quatre ou quarante-huit premières heures, elle perd dès le troisième jour la plus grande partie de son efficacité.

Des réactions provoquées chez le lapin par l'injection intradermique de chlorhydrate d'histamine ou d'adrénaline n'ont eu aucun effet protecteur à l'égard du charbon inoculé vingt minutes plus tard au même point.

Le développement de l'infection charbonneuse peut être suspendu par une réaction inflammatoire même quand la substance irritante n'est injectée que plusieurs heures après les bactériidies, mais toujours au même point de la peau.

Si l'on protège la peau, en y créant un foyer d'inflammation à travers lequel on inocule des bactériidies le lendemain, soit dans le tissu conjonctif sous-cutané, soit dans la cavité péritonéale, soit dans la circulation sanguine, l'infection charbonneuse échoue presque toujours chez le lapin. Au contraire, chez le cobaye, l'effet protecteur du foyer est inconstant et faible.

La solution de saponine à 2 p. 100, employée comme vecteur de certains vaccins charbonneux, agit comme les autres substances irritantes. Lorsqu'on inocule des bactériidies en

un point de la peau soumis la veille à une injection de 0 c. c. 5 de cette solution, l'infection avorte. Mais cette destruction silencieuse de germes virulents ne s'accompagne que d'une immunité médiocre.

Lorsque les réactions cellulaires et humorales qui préparent et effectuent la destruction des bactériidies dans les foyers d'inflammation, sont trop précoces ou d'emblée trop intenses, il n'en résulte aucune immunité appréciable. Quand elles interviennent moins brutalement ou plus lentement, elles s'accompagnent d'un faible degré de résistance spécifique. Mais l'immunité se développe dans toute son ampleur si l'on adopte la voie sous-cutanée pour inoculer les bactériidies en suspension dans un liquide faiblement irritant, comme dans la vaccination de G. Ramon et A. Staub, ou si on les inocule *quelques heures après* la substance inflammatoire, au même point.

L'ensemencement du foyer inflammatoire de la peau où les bactériidies ont été inoculées montre qu'elles sont détruites sur place presque en totalité entre la sixième et la vingt-quatrième heure. La phagocytose intervient peu dans cette destruction ; le liquide exsudé en ce point manifeste au contraire des propriétés bactéricides très élevées, qu'il s'agisse de bactériidies nues ou de bactériidies encapsulées.

C'est à l'action de ces principes bactéricides de la lymphe inflammatoire qu'il faut attribuer, croyons-nous, l'inhibition de l'infection charbonneuse quand les bactériidies inoculées sont associées à des substances irritantes, à des germes microbiens ou à leurs toxines.

Les lapins immunisés contre le charbon répondent à l'inoculation intradermique de bactériidies virulentes par une réaction inflammatoire, précoce, qui semble avoir pour effet d'immobiliser les germes d'épreuve et de les préparer ainsi à subir au maximum l'action destructive des principes bactéricides normaux, renforcés par les anticorps acquis au cours de l'immunisation.

L'ébauche d'immunité que les lapins et les cobayes tuberculeux acquièrent à l'égard du charbon semble liée à l'intervention de principes

identiques à ceux qui opèrent dans les foyers d'inflammation. Il est vraisemblable d'admettre qu'elle relève de l'allergie non spécifique conférée par le bacille de Koch.

BIBLIOGRAPHIE

- BECO. *Cent. f. Allg. Path.*, **6**, 1895, p. 16.
- BESREDKA (A.). *Ces Annales*, **35**, 1921, p. 421 ; *Bull. Inst. Pasteur*, **20**, 1922, p. 473 et 513 ; **23**, 1925, p. 872 ; *Immunité locale*, Paris, 1925.
- BLAGOVESTSCHENSKY (N.). *Ces Annales*, **4**, 1890, p. 689.
- BOQUET (A.) et SAENZ (A.). *Ces Annales*, **50**, 1933, p. 311.
- BOQUET (A.), NINNI (C.) et BRETEY (J.). *C. R. Soc. de Biol.*, **117**, 1934, p. 311.
- BORDET (J.). *Ces Annales*, **11**, 1897, p. 177.
- BORDET (P.). *Ces Annales*, **56**, 1936, p. 325 ; **57**, 1937, p. 357.
- BOUCHARD (P.). *C. R. Acad. des Sc.*, **108**, 1889, p. 713.
- BUCHNER (H.). *Berlin. klin. Woch.*, 1890, p. 216.
- DELARBRE. *Thèse Médecine*, Paris, 1906.
- DUNGERN (VON). *Zeit. f. Hyg.*, **18**, 1894, p. 177.
- EMMERICH (R.). *Arch. f. Hyg.*, **6**, 1887, p. 442.
- EMMERICH et LOW. *Zeit f. Infekt.*, **34**, 1899, p. 1.
- FORTINEAU (L.). *Ces Annales*, **24**, 1910, p. 955.
- FRANCK (G.). *Munch. Med. Woch.*, n° 9, 1899.
- FURST. *Arb. Gesundh.*, **52**, 1920, p. 93.
- GRATIA (A.). *C. R. Soc. de Biol.*, **89**, 1923, p. 827.
- GUNDEL (M.) et KHEWE (H.). *Cent. f. Bakt.*, **124**, 1932, p. 519.
- HIRAYAMA (T.). *Zeit. f. Immun.*, **68**, 1930, p. 218.
- HOMUTOV (P.). *Ces Annales*, **56**, 1936, p. 535.
- HRUSKA (C.). *C. R. Acad. des Sc.*, **192**, 1931, p. 882.
- ISABOLINSKY (M. P.) et SOBOLEWA (R. M.). *Cent. f. Bakt.*, **133**, 1934, p. 107.
- ISSAEFF. *Zeit. f. Hyg.*, **16**, 1894, p. 287.
- JEZIC (J.). *Tierärztz. Runds.*, **15**, 1934.
- DI MATTEI (C.). *Lav. di. Istit. Igiene*, Rome, 1889.
- MAZUCCHI. (M.). *Clin. Veter.*, 1929, p. 201 et 663.
- METCHNIKOFF (E.). *Immunité dans les maladies infectieuses*, Paris, 1901.
- NINNI (C.) et DE SANCTIS MONALDI (T.). *C. R. Soc. de Biol.*, **107**, 1931, p. 1246.
- PAPACOSTAS (G.) et GATÉ (J.). *Les Associations microbiennes*, Paris, 1928.
- PASTEUR (L.). *C. R. Acad. des Sc.*, **85**, 1877, p. 107 ; **91**, 1880, p. 315.
- PAWLOWSKY. *Virch. Arch.*, **108**, 1887, p. 494.
- RAMON (G.) et FALCHETTI (E.). *C. R. Soc. de Biol.*, **119**, 1935, p. 1077

- RAMON (G.) et STAUB (A.). *C. R. Soc. de Biol.*, **119**, 1935, p. 1073 ;
C. R. Acad. des Sc., **201**, 1935, p. 241 ; **203**, 1936, p. 132 ; *Bull.*
Acad. Vétér. de France, **9**, 1934, p. 375 ; *Rev. Immun.*, **2**,
1936, p. 401.
- ROGER (G. H.). *C. R. Soc. de Biol.* **47**, 1895, p. 375.
- SANARELLI (G.) et ALLESSANDRINI. *C. R. Soc. de Biol.*, **111**, 1932, p. 849.
- SILBERSCHMIDT (W.) et SCHOCH (E.). *Ces Annales*, **34**, 1920, p. 669.
- STAMATIN (N.). *Arch. Veter.*, **26**, 1934, p. 1 ; *Ces Annales*, **61**, 1938,
p. 394.
- STAUB (A.). *C. R. Soc. de Biol.* **110**, 1932, p. 1214.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PHÉNOMÈNES HÉMORRAGIQUES

par A. ALECHINSKY.

(Laboratoire de Bactériologie de l'Université de Bruxelles.)

On sait, depuis longtemps, que de nombreuses infections se compliquent fréquemment d'effusions sanguines, mais, jusqu'à ces dernières années, le phénomène n'avait suscité que des essais d'interprétation fragmentaires et imprécis.

C'est pourquoi les travaux récents de Shwartzman ont été accueillis avec tant d'intérêt, car ils révélaient, avec une constance parfaite, les conditions expérimentales de production d'un phénomène de réactivité cutanée à caractère hémorragique obtenu à l'aide de produits bacillaires.

Mais si Shwartzman s'est attaché aux modalités cutanées de ces réactions, il se fait que Sanarelli, bien avant lui, en avait décrit les manifestations viscérales, qui, comme nous le verrons, procèdent d'un mécanisme identique.

La toute première observation faite par Sanarelli remonte à 1894 [1]. Il poursuivait alors des recherches sur les propriétés de la toxine typhique. Il avait constaté qu'une première injection de cette toxine détermine, chez le singe, des troubles de toxi-infection, dont l'animal se rétablissait rapidement. Deux jours après, une deuxième injection du même produit entraînait la mort, précédée d'une éruption purpurique très étendue.

Ni à ce moment, ni du reste plus tard, Sanarelli n'a pu mesurer toute la portée de ces observations. Il a continué ses longues et patientes études sur les toxines produites par les microbes de la flore intestinale et on retrouve, éparses dans les nombreux travaux qu'il publia depuis 1916 [2], des observations d'expérience qui, à la lueur de nos connaissances actuelles, apparaissent chaque fois comme des cas particuliers

de « phénomènes hémorragiques » cutanés ou viscéraux.

Ce n'est qu'en 1924 [3] que Sanarelli a lui-même dégagé de toutes ses propres observations une description précise et nette des conditions d'obtention d'hémorragies viscérales, résultant d'une deuxième injection d'un produit bacillaire, chez un organisme ayant déjà subi une première injection.

LE PHÉNOMÈNE DE SANARELLI.

Si, dans la veine marginale de l'oreille du lapin, on introduit un peu de culture en bouillon de vibrion cholérique, l'inoculation est bien supportée, l'animal ne présente aucun malaise apparent. Mais si, vingt-quatre heures après l'injection du choléra, on injecte par la même voie du filtrat de culture en bouillon d'un microbe banal, colibacille ou *Proteus*, on voit apparaître bientôt des symptômes d'algidité et, en quelques heures, l'animal succombe.

A l'autopsie, on constate que la cavité abdominale renferme des caillots de sang ; les viscères sont congestionnés ; certains de ces viscères présentent des taches hémorragiques de dimensions fort variables, allant de points purpuriques jusqu'à de larges ecchymoses, notamment dans l'intestin, sur les parois épiploïques et dans les reins.

Sanarelli signala aussi que les mêmes symptômes d'algidité avec hémorragie se répètent même quand le vibrion, au lieu d'être injecté dans la veine, est inoculé directement dans des tissus lymphoïdes tels que l'appendice, ou les plaques de Peyer du cæcum, vingt-quatre heures avant l'injection intraveineuse du filtrat. Dans ce cas, les réactions congestives et hémorragiques sont particulièrement prononcées aux endroits où fut pratiquée l'inoculation du choléra.

Les expériences de Sanarelli furent reprises dès 1923, par Zdrodovski et Brenn qui, en 1923 [4], confirment entièrement ces résultats. Ils soulignent que les hémorragies sont constantes et fréquemment généralisées, s'étendant à un grand nombre de viscères, parfois même à la peau. En 1928 [5], lors d'une deuxième publication sur le même sujet, Zdrodovski proposa de donner à l'ensemble de ces symptômes pathognomoniques, l'appellation de « Phénomène de Sanarelli ».

LE PHÉNOMÈNE DE SHWARTZMAN.

C'est en étudiant la réactivité cutanée avec la toxine typhique que Shwartzman découvrit, en 1927 [6], le phénomène que voici :

Lorsque dans la peau du lapin on injecte quelques centi-cubes du filtrat d'une culture en bouillon de bacille typhique, il ne se forme à l'endroit de l'injection qu'une simple réaction inflammatoire banale avec œdème sans importance. Mais si, vingt-quatre heures après, on introduit un peu de ce filtrat par voie intraveineuse, on voit apparaître, en quelques heures, une tache hémorragique à la peau, là où fut pratiquée la première injection.

En 1928 [7], et dans les années suivantes, Shwartzman constata que d'autres filtrats tels que les filtrats de cultures de *B. coli*, de méningocoque, de bacilles dysentériques, de bacilles paratyphiques, etc., peuvent être utilisés pour la première ou la seconde injection. De plus, la première ne doit pas nécessairement être administrée sous la peau : pratiquée dans le poumon ou dans le rein, elle détermine la localisation de la lésion hémorragique, qui sera provoquée vingt-quatre heures plus tard par l'introduction intraveineuse du filtrat microbien.

Au début, ce phénomène, comme d'ailleurs celui qu'avait observé Sanarelli, n'a retenu que peu l'attention des chercheurs. L'élan ne fut vraiment donné qu'en 1930, au premier Congrès International de Microbiologie, lorsque Shwartzman lui-même eut communiqué à cette assemblée les résultats de ses recherches. Et, presque simultanément, parurent en 1931 les premières publications de F. Burnet [8], de Gratia et Linz [9], de Paul Bordet [10]. Puis, de tous côtés, d'autres travaux ont vu le jour, apportant de larges contributions à l'étude de ces phénomènes.

C'est ainsi que F. Burnet, tout en confirmant les expériences de Shwartzman, apporta des faits intéressants sur lesquels nous aurons l'occasion de revenir au cours de ce travail. Gratia et Linz, d'une part, Paul Bordet, d'autre part, outre la confirmation des travaux de Shwartzman et de Sanarelli, eurent le

grand mérite de reconnaître l'analogie existant entre les phénomènes observés par Sanarelli et par Shwartzman. Ces auteurs ont montré, en effet, que divers agents infectieux — c'est notamment le cas pour le charbon, la vaccine et la rage (Gratia et Linz) [11, 12, 13], la tuberculose, la pseudo-tuberculose et le muguet (Paul Bordet) [14, 15, 16], — sont capables, comme les filtrats microbiens, de jouer le rôle d'éléments préparants. Leur localisation fixe le siège de la lésion hémorragique et en fait soit un Sanarelli, soit un Shwartzman, suivant la technique employée à leur production.

La grande analogie des réactions hémorragiques obtenues dans les deux cas devait forcément amener les chercheurs à la question suivante :

LE PHÉNOMÈNE DE SANARELLI ET LE PHÉNOMÈNE DE SHWARTZMAN SONT-ILS IDENTIQUES ?

En partant de l'analogie frappante des réactions, Gratia et Linz n'ont pas hésité à admettre leur identité. Paul Bordet considère que la réaction de Shwartzman n'est qu'une variante de la réaction de Sanarelli. Il y a là un problème qui demande une solution définitive. Et, avant d'entrer dans le vif de la discussion, il nous paraît utile de comparer les conditions respectives nécessaires à la réalisation de ces deux phénomènes.

Pour les comparer, faisons d'abord ressortir les analogies ; elles sont nombreuses.

1° Dans le phénomène de Sanarelli, comme dans les phénomènes de Shwartzman, nous avons vu que la première injection, dite préparante, peut être pratiquée à l'aide d'une culture ou à l'aide des filtrats de cultures, de germes divers.

2° Pour la seconde injection, dite déchaînante, on peut utiliser soit un filtrat de la même culture que celle qui a servi pour la préparante, soit un filtrat provenant d'un germe différent.

3° L'incubation, c'est-à-dire l'intervalle de temps qu'on laisse s'écouler entre les injections, est généralement de douze à quarante-huit heures dans les deux cas.

4° Les animaux les mieux adaptés à ces expériences sont les lapins et les cobayes, mais l'animal de choix reste toujours, pour les deux phénomènes, le lapin.

5° Enfin, les symptômes fondamentaux qui caractérisent le phénomène de Sanarelli et le phénomène de Shwartzmann, sont les hémorragies.

Voyons maintenant en quoi consistent les différences ; elles sont moins nombreuses.

1° Dans le phénomène de Shwartzman, on sait que l'injection préparante est effectuée par la voie dermique ; dans le phénomène de Sanarelli, elle est administrée par la voie veineuse.

2° Tandis que dans le phénomène de Shwartzman les manifestations hémorragiques apparaissent à l'endroit de l'injection préparante, dans le phénomène de Sanarelli elles sont généralement multiples et disséminées dans plusieurs organes.

Tels sont, en résumé, les principaux faits indiquant l'étroite parenté de ces phénomènes. Les différences qui les séparent, on le conçoit aisément, sont en réalité d'ordre purement technique. On peut donc s'attendre à ce qu'en modifiant la technique de préparation de Shwartzman, nous assistions à l'apparition d'un phénomène complet de Sanarelli-Shwartzman, et l'expérience a confirmé notre hypothèse.

OBTENTION DU PHÉNOMÈNE COMPLET, CUTANÉ ET VISCÉRAL.

On sait que Shwartzman attribuait primitivement une importance considérable à ce qu'il appelle « le facteur peau ». L'intervention active du tissu cutané lui semble être indispensable au développement des réactions hémorragiques. Lui-même, cependant, avait noté la possibilité de préparer un rein ou un poumon. Sanarelli avait montré également la possibilité de préparer les organes lymphoïdes.

Notre premier soin a donc été de rechercher une technique expérimentale permettant de provoquer l'hémorragie non pas par l'injection préparante dermique locale, comme l'a fait Shwartzman, ou par l'injection préparante vasculaire générale, comme l'a fait Sanarelli, mais par l'introduction du

filtrat préparant directement dans le réseau vasculaire d'un territoire bien délimité.

La technique employée est très simple.

A l'aide de deux petits bâtonnets en bois, dont nous lions les extrémités, nous comprimons la base de l'oreille d'un lapin, de façon à arrêter toute circulation dans la partie distale de cette oreille. Dans l'oreille ainsi traitée, nous introduisons par la veine marginale, 0 c. c. 5 du filtrat d'une culture de *B. coli* en bouillon de six jours : c'est l'injection préparante. On voit par transparence, le filtrat parcourir le système veineux de tout le territoire isolé. Après quatre ou six heures, la compression est levée, la circulation se rétablit et l'oreille se redresse rapidement comme si rien ne s'était passé. Si à ce moment, ou dans les vingt-quatre heures qui suivent, on injecte 2 ou 3 cent. cubes du même filtrat dans la veine marginale de l'oreille du côté opposé, il se développe en quelques heures des points purpuriques de plus en plus nombreux, qui se confondent finalement, pour former une nappe hémorragique parfois considérable, couvrant toute la surface de l'oreille préparée (fig. 1, 2, 3, 4, 5).

Cette expérience effectuée chez une quarantaine de lapins, nous a donné des résultats absolument semblables dans 73 p. 100 des cas ; 25 p. 100 n'ont réagi que d'une façon douteuse ou faiblement. Chez ceux-ci, une deuxième injection par la voie intraveineuse pratiquée vingt-quatre heures après la première, provoque régulièrement la mort du lapin, au bout de deux à six heures, rarement après vingt-quatre heures. L'autopsie décèle alors des réactions hémorragiques viscérales du type Sanarelli. Elles siègent habituellement dans les poumons, les reins, dans l'intestin, et parfois même dans le foie ou dans les capsules surrénales. Elles sont la preuve que les lésions vasculaires ne sont pas localisées seulement à la partie périphérique, c'est-à-dire aux capillaires de la peau, mais que la circulation viscérale, elle aussi, a été influencée par la première injection déchaînante, puisqu'une nouvelle injection déchaînante, à vingt-quatre heures d'intervalle, tue l'animal en réalisant le tableau classique du phénomène de Sanarelli. La première injection déchaînante a fait fonction d'injection préparante par voie vasculaire non limitée, d'où l'apparition, après la deuxième déchaînante, d'une réaction de Sanarelli généralisée. Par contre, une préparation vasculaire limitée détermine une réaction de Sanarelli localisée qui, en réalité, n'est autre chose qu'une réaction de Shwartzman.

Or, et c'est là que réside l'intérêt de ces expériences, dans tous ces phénomènes, locaux ou généraux, il ne s'agit pas d'une réactivité particulière de la peau ou des viscères, mais bien d'une réactivité essentielle des vaisseaux.

Dans le cas du phénomène de Shwartzman, ce sera le réseau capillaire cutané qui réagira ; dans le cas du phénomène de Sanarelli, ce seront les réseaux capillaires des viscères. Il ne s'agit que d'une simple différence de localisation vasculaire, le mécanisme essentiel de production est le même ; nous sommes donc autorisé à conclure à l'identité des deux phénomènes.

Depuis que nous avons fait connaître [17] à la Société de Biologie, en mars 1933, ce mode de préparation vasculaire locale, des confirmations aussi bien par Sanarelli que par Shwartzman ont été signalées.

Lors d'une séance spécialement consacrée aux phénomènes hémorragiques, à la première Semaine Internationale de Montreux (9-14 septembre 1933), à laquelle nous avons exposé nos observations [18], Sanarelli a bien voulu confirmer verbalement nos résultats.

En novembre de la même année, Shwartzman, utilisant notre mode de préparation, a réussi à réduire au minimum le temps de préparation. Mais il modifiait pour cela la perméabilité vasculaire de la région préparée, soit en la chauffant, soit en ajoutant au filtrat bactérien une substance telle que l'extrait testiculaire de Duran-Reynals [19], qui s'est révélé particulièrement perméabilisant. Dans ces conditions, il suffisait de maintenir le filtrat dans les vaisseaux capillaires de l'oreille ligaturée, pendant cinq minutes, pour assurer une imprégnation de la région traitée. Et lorsque après trente minutes ou dans les vingt-quatre heures qui suivent, il pratiquait l'injection déchaînant par la veine marginale de l'oreille opposée, la réaction hémorragique apparaissait là seulement où l'injection préparante avait été pratiquée.

Il faut pourtant souligner que, pour réussir notre expérience de préparation vasculaire locale avec le filtrat seul, il est nécessaire de garder la ligature au minimum quatre heures et au maximum six heures. Ces limites, auxquelles nous sommes arrivé par tâtonnement, permettent d'obtenir une

bonne imprégnation du réseau vasculaire, sans qu'il se produise de troubles résultant d'une compression trop prolongée. C'est ce terme de six heures que nous avons utilisé le plus souvent, lorsque nous nous servions de filtrat ordinaire.

Mais on peut aussi opérer les deux injections, préparante et déchaînante, simultanément, à condition de garder le filtrat préparant emprisonné dans le territoire vasculaire oblitéré pendant le temps suffisant pour permettre sa fixation. Cette expérience a été déjà rapportée [20] dans une note préliminaire.

Chez 3 lapins A, B et C, on comprime la base d'une oreille suivant notre technique. Le lapin A reçoit 0 c. c. 5 du filtrat de *B. coli* V dans la veine marginale de l'oreille liée et en même temps 1 cent. cube du même filtrat dans la circulation générale par la veine marginale de l'oreille opposée. Le lapin B ne reçoit qu'une seule injection de 1 cent. cube du filtrat dans la circulation générale et rien dans les veines de l'oreille liée. Le lapin C ne reçoit qu'une injection de 0 c. c. 5 du filtrat dans les vaisseaux de l'oreille liée et rien dans la circulation générale.

Cela fait, on attend quatre à six heures et on enlève la ligature chez les 3 animaux en expérience. Déjà, après deux heures environ, on remarque que l'oreille préparée du lapin A s'empourpre, s'alourdit, devient flasque et, dans les vingt-quatre heures, il s'y développe un purpura hémorragique étendu à toute la surface. Les lapins B et C ne présentent aucun de ces symptômes.

Il est remarquable de voir ce phénomène se vérifier également dans l'expérience de Schwartzman [21]. Cet auteur injecte dans la veine marginale de l'oreille ligaturée, un mélange de filtrat et d'extrait testiculaire. Cinq minutes plus tard, il enlève la ligature pour rétablir la circulation. Et, lorsque trente minutes après, il pratique l'injection déchaînante, il voit déjà apparaître l'accident hémorragique dans l'oreille ainsi préparée.

Le temps de préparation à la réaction de Schwartzman peut donc être singulièrement abrégé. Dans l'exemple de Schwartzman, il n'est plus que de quelques minutes, grâce à la présence d'un extrait testiculaire. Dans nos expériences où le filtrat est introduit seul, le temps de préparation est de quelques heures. Nous avons pu, cependant, obtenir la préparation vasculaire locale, en deux heures, et parfois même en dix ou quinze

minutes, lorsque nous avons employé, à cette fin, une endotoxine au lieu de filtrat. Son activité s'est révélée particulièrement énergique et rapide ; nous aurons l'occasion de revenir sur ses propriétés, intéressantes encore à d'autres points de vue.

Signalons enfin que la préparation dermique peut être également accélérée. Le pouvoir de la colitoxine, par exemple, peut être renforcé par simple addition d'un sérum sanguin quelconque.

Si, en effet, on injecte dans la peau d'un lapin un mélange de 0 c. c. 5 de filtrat colibacillaire et de 1 cent. cube de sérum normal et que, quatre heures plus tard, on introduit dans la veine marginale de l'oreille 1 ou 2 cent. cubes de filtrat pur, la réaction hémorragique apparaît dans la région de la peau préparée avec le mélange.

LE PHÉNOMÈNE DE SANARELLI-SHWARTZMAN ET L'ANAPHYLAXIE.

Dans les lignes qui précèdent, nous avons indiqué les conditions dans lesquelles le phénomène de Sanarelli et le phénomène de Shwartzman peuvent se réaliser, et nous avons confirmé, grâce à une technique nouvelle, que les deux phénomènes sont identiques. Mais il paraît nécessaire de préciser, en outre, qu'ils se différencient des réactions locales de l'anaphylaxie. Du fait que deux injections, l'une préparante, l'autre déchaînante, sont nécessaires à la production du phénomène de Sanarelli-Shwartzman, il était inévitable qu'un rapprochement s'établît dans l'esprit des chercheurs et que ceux-ci fussent tentés d'y rechercher les caractères classiques du phénomène d'Arthus.

Sanarelli [3] fut le premier à affirmer que son phénomène est de nature anaphylactique et Zdrodovski [5], puis Gratia et Linz [41] partagèrent son idée. Plus tard, Gratia et Linz [22] firent rentrer les réactions de Sanarelli et de Shwartzman dans le cadre de l'allergie et, en raison du caractère hémorragique de ces phénomènes, proposèrent la dénomination d' « allergie hémorragique ».

Or, il ne nous semble pas que l'assimilation avec l'anaphylaxie puisse se soutenir ; l'allergie ne nous paraît avoir que des

analogies bien discutables avec les phénomènes de Sanarelli et de Shwartzman, à moins de prendre ce vocable dans un sens étymologique tellement vaste qu'il perd toute signification. Du reste, aucun de ces auteurs n'a apporté de preuves expérimentales décisives à l'appui de l'origine anaphylacto-allergique des phénomènes hémorragiques. Quant à Shwartzman [23], nous savons que, lui aussi, lors de ses premières observations sur le phénomène qu'il étudiait, avait pensé à l'anaphylaxie, mais qu'il changea bientôt d'opinion, lorsqu'il vit que le sérum de cheval, dont on sait la valeur anaphylactogène, se montrait totalement inefficace à la production de la réaction hémorragique. De plus, il fit remarquer que la réaction est exempte de toute spécificité, c'est-à-dire que l'hémorragie peut être déchaînée par un filtrat microbien différent de celui qui a servi à l'injection préparante. D'autre part, Shwartzman signala le fait que, dans sa réaction, le délai qui s'écoule entre les deux injections n'est pas celui de l'anaphylaxie. Dans le premier cas, il est bref, et, une fois ce délai dépassé, la réaction n'apparaît plus. Dans le second cas, il est long à s'établir, et, une fois établi, persiste longtemps. Enfin, contrairement à l'anaphylaxie, le phénomène hémorragique n'est pas réalisable par voie passive.

A ces arguments de Shwartzman, qui par eux-mêmes sont déjà assez suggestifs, nous pouvons ajouter, et ceci est important, que le sérum de cheval est non seulement incapable à lui seul de réaliser la réaction hémorragique, mais que ce sérum reste encore inefficace chez les animaux anaphylactisés vis-à-vis de ce même antigène, en respectant, bien entendu, les conditions exigées pour l'obtention du phénomène de Sanarelli et de Shwartzman.

Cependant, certains auteurs ont prétendu, malgré tout, que le phénomène de Shwartzman peut, dans certaines conditions, être transmis par voie passive (Gratia et Linz) [24], que le sérum de cheval convient aux injections préparantes et déchaînantes, au même titre que le filtrat microbien (Albus, Gunther et Schwartz, Hugo) [25], et que le phénomène de Shwartzman est comparable au phénomène d'Arthus (Gratia et Linz) [26].

Bien que la réfutation de ces différents points sorte du cadre du présent travail, nous essayerons cependant de montrer

brièvement, que toutes ces affirmations ne reposent pas sur des bases expérimentales conformes aux règles admises pour faire apparaître le phénomène de Sanarelli-Shwartzman.

Si, en effet, dans ces cas particuliers, comme nous l'avons constaté nous-même, l'hémorragie apparaît, c'est par suite non d'un phénomène d'anaphylaxie pur, mais de l'action combinée de la toxine bactérienne et du sérum de cheval sur l'organisme animal qui se trouve en état d'anaphylaxie.

Prenons comme exemple l'expérience suivante: A un lot de 30 lapins, nous injectons dans la peau du flanc, 1 ou 2 cent. cubes de sérum de cheval. Le sérum injecté est rapidement absorbé sans laisser de traces. Après un intervalle de vingt-quatre heures, nous leur injectons dans les veines 3 ou 4 cent. cubes du même sérum. Cette inoculation, très bien supportée également, n'entraîne aucune réaction locale à l'endroit de la première injection. Ceci est bien la preuve que dans ces conditions expérimentales le phénomène hémorragique ne se réalise pas à l'aide de cet antigène.

Continuons l'expérience vingt et un jours plus tard, sur ces mêmes lapins, qui sont à présent anaphylactisés vis-à-vis du sérum de cheval. Nous leur injectons dans la peau du dos, 0 c. c. 2 du sérum de cheval dilué au 1/20. Cette fois la peau réagit, il apparaît une papule épaisse marquée d'un érythème plus ou moins intense. Faisons alors, après vingt-quatre heures d'intervalle, une injection intraveineuse de 2 cent. cubes du sérum à la même dilution. Ici encore, on ne voit pas apparaître de réactions hémorragiques. Cependant, 5 lapins ont succombé d'un choc anaphylactique foudroyant. Leur autopsie ne démontre que de la simple congestion viscérale avec stase veineuse, mais sans la moindre suffusion sanguine. 12 ont présenté des symptômes d'anaphylaxie nette, mais non mortelle, avec émission de matières fécales et d'urine ; les 13 derniers sont restés couchés sur le flanc avec respiration accélérée. Au bout d'une heure, ces deux derniers lots étaient complètement rétablis.

La conclusion que nous pouvons tirer de ces expériences, est que chez le lapin anaphylactisé classiquement au sérum de cheval, le phénomène hémorragique ne se réalise pas avec cet antigène.

Mais, voici où les faits deviennent vraiment suggestifs : chez les animaux anaphylactisés, la réaction de Shwartzman peut apparaître, à condition que l'injection déchaînante soit pratiquée à l'aide d'un filtrat microbien.

A 12 lapins anaphylactisés par le même procédé que dans l'expérience précédente, nous injectons dans la peau de la cuisse gauche, vingt et un jours après la première injection, 0 c. c. 2 du sérum de cheval au

1/20 et dans la peau de la cuisse droite, 2 cent. cubes du filtrat de *B. coli*. Le lendemain, nous constatons que chez 3 lapins il apparaît déjà des taches hémorragiques à l'endroit préparé par le sérum, tandis que les 9 autres présentent des deux côtés de l'érythème avec infiltration œdémateuse. A ce moment, nous injectons dans les veines de ces 9 lapins, 1 cent. cube du filtrat de *B. coli*. Quelques heures plus tard, le phénomène hémorragique apparaît aussi bien du côté préparé avec le sérum que du côté préparé avec le filtrat.

Du fait que 3 des lapins ont donné d'emblée une réaction hémorragique avant l'injection déchaînante, on peut se demander si le filtrat préparant injecté d'un côté ne vient pas intensifier l'action du sérum préparant injecté de l'autre côté.

Pour nous en rendre compte, nous préparons une nouvelle série de 12 lapins anaphylactisés au sérum de cheval et nous leur injectons 0 c. c. 2 du sérum dilué au 1/20 dans la peau du flanc et en même temps 2 cent. cubes du filtrat dans les veines. Six heures plus tard, nous constatons que 5 lapins sont déjà porteurs d'une plaque hémorragique typique de Schwartzman, à l'endroit préparé par le sérum ; chez les 7 suivants, les endroits sériques sont œdédiés et érythémateux. Le lendemain, nous injectons dans les veines de ces 7 derniers, 1 cent. cube du filtrat. Quelques heures plus tard, nous trouvons 3 de ces lapins morts. A l'autopsie, ils présentent la réaction viscérale de Sana-relli. Les trois lapins restant ont présenté la réaction de Schwartzman.

Enfin, à un troisième lot de 6 lapins anaphylactisés, nous injectons, dans la peau, 0 c. c. 2 du sérum dilué, et, vingt-quatre heures après, 1 cent. cube du filtrat dans les veines. Le lendemain, 4 lapins ont manifesté une réaction hémorragique, les 2 autres n'ont pas réagi.

Donc, seuls les animaux anaphylactisés au sérum de cheval peuvent être préparés à la réaction de Schwartzman avec cet antigène. Pour déclencher l'hémorragie, il est indispensable d'utiliser un filtrat déchaînant. Toutefois, le phénomène hémorragique peut se rencontrer d'emblée, sans l'injection déchaînante, si la toxine microbienne se trouve déjà à ce moment dans le sang circulant. Mais il ne faut pas confondre ce résultat avec le phénomène d'Arthus, comme l'ont fait certains auteurs. Le phénomène d'Arthus a, en effet, des caractères distinctifs qui le séparent indubitablement du phénomène de Schwartzman. Il apparaît, on le sait, au moins dix jours après l'injection d'une protéine (sérum de cheval), mais il est plus marqué si l'animal a reçu plusieurs injections à quelques jours d'intervalle.

La réaction de Schwartzman consiste, au contraire, en un

phénomène hémorragique profus, atteignant d'emblée son maximum quelques heures après la déchaînannte. Le phénomène d'Arthus est toujours bénin, lorsque le sujet a reçu une seule injection d'antigène, à moins que celle-ci ne soit très volumineuse : il ne devient vraiment intense, avec lésions hémorragiques et nécrotiques, qu'après des semaines de sensibilisation au même antigène.

De plus, le phénomène d'Arthus est transmissible passivement, comme du reste tout phénomène anaphylactique pur. Le phénomène de Schwartzman ne l'est pas. On sait que le sérum et le sang défibriné d'animaux préparés en vue du phénomène de Schwartzman (c'est-à-dire ayant reçu depuis vingt-quatre heures une injection de coli toxine préparante), ne peuvent conférer à un animal neuf l'état de préparation. Nos essais concordent à ce point de vue avec ceux de Bock [27], de Schwartzman [23], de Paul Bordet [28], et d'autres encore.

Gratia et Linz [24] ont recherché, par l'expérience suivante, s'il n'apparaissait pas dans la région préparée, des substances nouvelles capables de provoquer la réaction passivement chez un animal neuf.

Un fragment d'éponge, imbibé de filtrat de *B. coli*, est introduit sous la peau d'un lapin. Vingt-quatre heures plus tard, la région ainsi préparée devient érythémateuse et œdématiée. On retire l'éponge et on exprime le liquide qu'elle contient. Le suc obtenu est introduit dans la peau d'un lapin neuf, auquel, quatre ou cinq heures plus tard, on injecte dans la veine le filtrat de *B. coli*. La réaction hémorragique, caractéristique du phénomène de Schwartzman, apparaît bientôt. Gratia et Linz en ont conclu, d'abord, qu'il y avait transmission passive puisque, dans leur expérience, un délai de quatre heures était suffisant, alors que la préparation active habituelle demande bien davantage. Mais ils ont dû abandonner cette conclusion lorsqu'ils ont vu ultérieurement que l'intervalle de temps entre les deux injections dans le Schwartzman typique peut être réduit à cinq ou six heures. D'autre part, leur expérience n'excluait pas la possibilité de la présence, dans le liquide exprimé, d'un peu de filtrat subsistant dans l'éponge et rendant ce liquide actif.

Bien que l'expérience de Gratia et Linz n'apporte pas de

certitude à la transmission passive, elle demeure néanmoins instructive et nous allons tâcher d'en dégager l'importance [29].

Introduisons sous la peau d'un premier lapin le fragment d'éponge imbibé de filtrat. Après vingt-quatre heures, la peau de la région est congestionnée et œdématiée. Au lieu de retirer à ce moment l'éponge, comme l'ont fait Gratia et Linz, effectuons l'injection déchaînante. La réaction hémorragique apparaît. Retirons alors l'éponge, exprimons le liquide qu'elle contient et injectons un peu de ce liquide dans la peau d'un lapin neuf. Lorsqu'après quatre heures on pratique l'injection déchaînante à l'aide du filtrat de *B. coli* chez ce deuxième lapin, on assiste au développement de la réaction de Schwartzman typique. Une partie du filtrat introduit avec l'éponge avait donc diffusé dans le tissu cutané du premier sujet, puisque l'injection déchaînante a provoqué la réaction, mais il faut admettre qu'il en restait suffisamment dans l'éponge, pour que ce liquide exprimé fût apte à préparer un lapin neuf. Il semble, d'autre part, que l'intervalle puisse être singulièrement réduit lorsqu'on se sert de ce liquide exprimé de l'éponge.

Or, lorsque nous avons voulu reproduire la transmission passive par la méthode de Prausnitz-Kustner [30], nous avons échoué [29] et cependant le sérum injecté localement n'est pas complètement inactif. En effet, si on injecte dans la peau du flanc gauche d'un lapin neuf du sérum de lapin préparé et, vingt-quatre heures plus tard, dans la même région, 0 c. c. 25 du filtrat, on n'observe aucune réaction hémorragique, pas plus qu'au niveau de l'injection de contrôle (filtrat neuf) pratiquée dans la peau du flanc droit. Si, après quatre heures, on effectue par voie veineuse l'injection déchaînante, la réaction hémorragique survient uniquement au niveau de la région qui a reçu successivement le sérum et le filtrat.

Il faudrait pourtant se garder d'en conclure que le sérum de lapin préparé a exercé une action spécifique en raison même de cette préparation ; si on pratique l'expérience en injectant du sérum de lapin neuf ou même d'un animal neuf d'espèce différente, le résultat est identique. La propriété de favoriser l'action préparante du filtrat et d'abréger le délai nécessaire entre les injections préparantes et déchaînantes, appartient en réalité à tout sérum et, peut-être, nous le verrons, à d'autres humeurs de l'organisme. Il n'est d'ailleurs pas nécessaire que l'injection préparante et l'injection de sérum soient faites séparément. Si on injecte dans la peau d'un lapin neuf un mélange de 0 c. c. 5 de filtrat et de 1 cent.

cube de sérum normal, et si, quatre heures plus tard, on introduit dans la veine marginale de l'oreille 1 cent. cube de filtrat pur, la réaction hémorragique apparaît dans la région préparée avec le mélange. Il est donc évident que l'addition de sérum à la toxine active son pouvoir préparant à l'égard du phénomène de Shwartzman. C'est peut-être l'explication des résultats de Gratia et Linz : le liquide contient non seulement du filtrat, mais des humeurs provenant des tissus enflammés. Ce sont elles, nous allons le voir, qui accentuent l'activité préparante du filtrat. Pour le prouver, il fallait comparer l'action du suc extrait : 1° du derme préparé par le filtrat de *B. coli* ; 2° du tissu où s'est développée la réaction hémorragique à la suite de l'injection déchaînante. Dans ce but, on excise un fragment de peau, qu'on place dans un mortier. Après l'avoir coupé finement, on le triture en présence de sable stérile, en y ajoutant progressivement un peu d'eau physiologique ou de bouillon ordinaire. On obtient ainsi une émulsion homogène qu'on centrifuge dix minutes. Le liquide surnageant est filtré sur bougie et utilisé ensuite comme matériel d'injection [31].

Le fragment de peau est prélevé, d'une part, dans une région qui a reçu, vingt-quatre heures auparavant, 0 c. c. 5 de filtrat de *B. coli* ; d'autre part, dans une région où la réaction de Shwartzman est apparue à la suite de l'injection déchaînante. Le liquide obtenu dans les deux cas est injecté à 3 lapins neufs, dans la peau de l'abdomen, à raison de 2 cent. cubes par animal. Déjà, après une heure environ, la région ainsi préparée devient érythémateuse, présentant de l'empâtement et de l'œdème. Après quatre heures, exactement, nous pratiquons l'injection de filtrat de *B. coli* dans les veines. Au bout de deux, trois heures le plus souvent, la réaction apparaît en présentant une hémorragie d'intensité variable, parfois même considérable. Il n'y a pas de différence suivant que le lambeau de peau a été prélevé avant l'injection ou après l'apparition du phénomène. Une vingtaine d'extractions ainsi obtenues et éprouvées dans les mêmes conditions expérimentales, par séries de 3 ou 4 lapins normaux, nous ont donné le plus souvent des résultats positifs.

Comme contrôle, nous avons utilisé : 1° L'extrait de peau saine ; 2° l'extrait de peau enflammée, soit avec du bouillon ordinaire ou du tapioca, soit avec un irritant tel que la térébenthine. Ces extraits n'ont pas réalisé la préparation au phénomène de Shwartzman, et cet échec prouve la nécessité de la présence de colitoxine.

En effet, prenons 2 lapins de poids sensiblement égal ; injectons, dans le derme du flanc de chacun d'eux, un mélange composé de 1 cent. cube d'extrait de peau provenant d'un lapin normal et de 0 c. c. 5 de

filtrat de *B. coli* ; quatre heures plus tard, introduisons par voie veineuse aux animaux qui forment l'objet de cette expérience, 1 cent. cube du même filtrat. Au bout de quelques heures, l'accident hémorragique se produit aux endroits préparés.

En résumé : 1° l'extrait de peau préparée au filtrat colibacillaire est aussi capable de préparer un animal neuf à la réaction hémorragique que le filtrat lui-même ; celui-ci a donc conservé toutes ses propriétés, après vingt-quatre heures de contact avec le tissu cutané ; 2° l'extrait d'une région cutanée ayant donné la réaction hémorragique après la déchaînante, manifeste encore les mêmes capacités préparantes pour l'animal neuf ; le filtrat n'a subi aucune espèce de « neutralisation » par le fait de la réaction ; 3° l'extrait de peau normale, additionné de filtrat, se comporte, en injection préparante, comme l'extrait de peau préparée.

Nous pouvons donc conclure avec certitude : 1° qu'il n'y a pas formation de substances actives ou anticorps, au siège de l'injection préparante ; 2° que la transmission passive qu'on réalise n'est pas autre chose qu'un transport de filtrat rendu plus actif par la présence de suc tissulaire. L'augmentation de l'activité se traduit par l'obtention plus rapide du phénomène hémorragique.

Ainsi, nous souscrivons volontiers à la conclusion de Schwartzman, en disant que son phénomène hémorragique n'a rien de commun avec l'anaphylaxie et l'ensemble des nombreux faits rapportés nous autorise à repousser toute idée d'identité entre eux.

LA SUBSTANCE ACTIVE DE SANARELLI-SHWARTZMAN.

Il est bien établi, actuellement, que seules les bactéries sont capables de nous fournir la substance active à la production de phénomènes hémorragiques de Sanarelli et Shwartzman. Elle est présente dans les cultures et on la retrouve encore dans les filtrats de ces cultures. Sanarelli, pour provoquer sa réaction, utilise comme injection préparante la culture telle quelle, comme injection déchaînante, des filtrats. Shwartzman, lui, n'emploie que des filtrats. Gratia et Linz ont montré que le phénomène de Sanarelli, lui aussi, peut être réalisé, comme

celui de Schwartzman, en utilisant des filtrats pour les deux injections. Schwartzman prépare ses filtrats de deux façons : il filtre sur bougie ou bien des cultures en bouillon de six jours, ou bien des émulsions en eau physiologique de vingt-quatre heures sur gélose. Comme l'expérience nous a montré que la première méthode donne un meilleur rendement en substance active, c'est elle que nous avons utilisée pour nos recherches. F. Burnet, lui aussi, a constaté que ce sont les vieilles cultures en bouillon qui recèlent le plus de substances actives et donnent les meilleurs résultats. Ceci a été confirmé par Gratia et Linz.

En ce qui concerne le bacille typhique-paratyphique A et B, le colibacille, le bacille de Morgan et le vibrion cholérique, nous pouvons affirmer que la différence d'activité du filtrat de culture sur gélose de vingt-quatre heures et du filtrat de culture sur bouillon de six jours est considérable.

EXPÉRIENCE 1. — Une boîte de Roux, contenant de la gélose, est commencée de 3 ou 4 cent. cubes de culture de *B. coli V*, en bouillon. Après vingt à vingt-quatre heures d'incubation dans l'étuve à 37°, la culture est lavée avec 10 cent. cubes d'eau physiologique stérile. On laisse sédimenter l'émulsion pendant deux heures à la glacière, puis on centrifuge. Le liquide surnageant est filtré sur bougie L 3 immédiatement après la centrifugation. A 3 lapins de 1.500 grammes, nous injectons, dans la peau du flanc, 0 c. c. 5 de ce filtrat ; vingt-quatre heures plus tard, nous introduisons, dans la veine marginale de l'oreille, 1 cent. cube du même filtrat par kilogramme d'animal. Le lendemain, 2 lapins ont réagi et présentent chacun une petite tache hémorragique d'environ 1 à 2 centimètres de diamètre. Le troisième lapin ne montre qu'une simple réaction papuleuse avec un léger érythème.

EXPÉRIENCE 2. — On ensemence de *B. coli V* un ballon contenant 200 cent. cubes de bouillon. On laisse incuber pendant six jours à 37°. Puis on centrifuge la culture et on filtre sur bougie L 3. Nous injectons 0 c. c. 5 de ce filtrat dans la peau du flanc de 3 lapins de 1.500 grammes. Après vingt-quatre heures nous leur injectons, dans la veine marginale de l'oreille, 1 cent. cube du même filtrat par kilogramme d'animal. Le lendemain, les 3 lapins ont présenté de larges plaques hémorragiques de 7 à 8 centimètres de diamètre.

A titre d'illustration, nous rapportons ici les photographies de ces réactions. On y voit que la différence entre la réaction obtenue avec le filtrat de culture sur gélose de vingt-quatre heures (fig. 6) et celle provoquée par le filtrat de culture en bouillon (fig. 7) est énorme. Nous avons répété les expériences

avec les diverses souches microbiennes précitées et les résultats ont été rigoureusement identiques. Nous avons également comparé l'intensité de la réaction en travaillant avec des filtres obtenus de cultures en bouillon âgées de un à six jours. Les résultats de ces différentes réactions peuvent être résumés comme suit : Plus la culture microbienne est vieille, plus elle sera riche en substances actives et plus la réaction hémorragique locale sera intense. Ce fait peut être encore mieux mis en évidence par l'expérience que nous avons pu réaliser avec le staphylocoque [32]. Dans les expériences relatées par Burnet, Gratia et Linz, et Shwartzman lui-même, ce germe s'était montré totalement inactif à la réalisation du phénomène hémorragique. Cependant, en utilisant pour l'injection préparante des doses massives de filtrat staphylococcique (25 cent. cubes), H. Gross [33] avait réussi à le déclencher.

Dans un cas de dermatite herpétiforme de Dühring, nous avons isolé, du liquide des vésicules éruptives, un staphylocoque doré. Une culture de ce germe en bouillon, vieille de vingt jours et filtrée, a été utilisée comme matériel d'expérience.

Nous injectons à trois lapins adultes 1 cent. cube de ce filtrat dans la peau de la fesse, et, le lendemain, 2 cent. cubes du même filtrat dans les veines. Déjà, quelques heures après l'injection intraveineuse, on constate à l'endroit de primo-injection des points purpuriques qui ne tardent pas à confluer pour former bientôt une tache hémorragique de 1 à 2 centimètres de diamètre ; à la vérité, elle est moins marquée que la lésion provoquée dans les mêmes conditions par le filtrat de colibacille ; elle ne donne pas de nécrose et s'efface en trois ou quatre jours, sans laisser de traces visibles à la peau. Mais si, au lieu de faire toute l'expérience avec le filtrat staphylococcique, on utilise pour l'une des deux injections préparante ou déchaînant le filtrat de coli, et pour l'autre le filtrat de staphylotoxine, les accidents sont beaucoup plus marqués, voire même violents.

5 lapins de 2 kilogrammes reçoivent dans la peau de la cuisse 1 cent. cube de filtrat-coli. Après vingt-quatre heures, nous pratiquons par voie veineuse l'injection déchaînante de 2 cent. cubes du filtrat-staphylo. Le lendemain, on trouve chez 4 animaux une forte réaction hémorragique à l'endroit de l'injection préparante. Le cinquième lapin présente un érythème marqué avec œdème.

Inversement, 6 autres lapins, de 2.000 à 2.600 grammes, reçoivent dans la peau de la cuisse 1 cent. cube du filtrat-staphylo, et, vingt-quatre heures plus tard, 2 cent. cubes du filtrat-coli dans les veines. Le lendemain, on trouve 1 lapin mort, présentant dans la région de l'injection cutanée une plaque hémorragique très développée. 3 autres lapins

présentent une forte réaction de 3 à 4 centimètres de diamètre, qui se nécrose trois jours plus tard. Chez les deux derniers, un simple érythème congestif est apparu au siège de l'inoculation préparante.

Les échecs signalés plus haut par les auteurs, qui, les premiers, utilisaient le staphylocoque, sont vraisemblablement dus au fait qu'ils employaient des cultures trop jeunes pour que la substance active s'y trouve en concentration suffisante. Ce n'est qu'en travaillant avec des doses considérables de filtrats que Gross est parvenu à obtenir la réaction. En nous servant pour nos expériences de filtrats de cultures âgées de vingt jours, nous avons toujours eu des résultats positifs, même en employant des doses faibles. En somme, la production de substances actives paraît plus lente pour le staphylocoque que pour les autres germes utilisés. C'est pourquoi il faut attendre plus longtemps pour que la culture se soit suffisamment enrichie.

INJECTION PRÉPARANTE.

Sanarelli effectue l'injection préparante directement dans le sang par voie veineuse. Le produit injecté est rapidement entraîné par le courant sanguin et se répand dans toute la circulation. On sait que, dans ces conditions, lors de l'injection déchaînante, l'hémorragie apparaît dans un ou plusieurs viscères. Pour expliquer cette localisation, on peut admettre que la substance préparante de la première injection se fixe dans le tissu parenchymateux et crée une lésion capable de préparer un terrain local favorable au développement hémorragique.

En effet, Sanarelli a montré que, si l'injection préparante est pratiquée au sein même d'une glande ou d'un organe (l'appendice, le cæcum ou une plaque de Peyer), l'hémorragie peut apparaître au niveau de ces organes après l'administration intraveineuse de l'injection déchaînante.

De même, lorsque Shwartzman pratique l'injection préparante dans le derme, il se produit, à l'endroit où le filtrat est injecté, une lésion locale se traduisant par une tache érythémateuse avec empâtement séreux, qui deviendra hémorragique après l'injection déchaînante. Ce même auteur a aussi

montré que, s'il pratique l'injection préparante dans un poumon ou dans un rein, ce sera dans ces organes que l'hémorragie se déclenchera. On voit donc que la localisation des phénomènes, ainsi provoqués par les produits bactériens, ne doit rien au hasard et c'est bien l'emplacement de l'injection préparante qui détermine le lieu où l'injection déchaînante suscitera la réaction hémorragique.

Mais, si l'injection déchaînante a comme effet de déclencher le phénomène, elle est capable aussi de jouer le rôle d'injection préparante. Nous y avons déjà fait allusion au début de cette étude. Au cours d'une réaction locale de Shwartzman, si l'on fait une deuxième injection déchaînante à vingt-quatre heures d'intervalle de la première, on déclenche, dans ces conditions, une réaction généralisée de Sanarelli dans les viscères.

Prenons un premier exemple : injectons dans le derme d'un lapin 0 c. c. 5 du filtrat de *B. coli* et, vingt-quatre heures après, 1 cent. cube dans la veine. Quelques heures plus tard, la réaction de Shwartzman se déclare à la peau. Attendons encore vingt-quatre heures et faisons à ce lapin une deuxième injection intraveineuse de 2 cent. cubes du même filtrat. L'animal succombe. A l'autopsie, on constate une réaction viscérale typique de Sanarelli. Comme on peut s'en rendre compte par les figures 8, 9, 10, les localisations hémorragiques peuvent être multiples et très variées. Outre la réaction cutanée de Shwartzman, on trouve un purpura de tout le gros intestin, des taches hémorragiques plus ou moins étendues dans l'intestin grêle; les reins sont entièrement hémorragiques, ponctués de pétéchies; la vessie est congestionnée avec dilatation veineuse; le péritoine et le diaphragme présentent de larges ecchymoses.

En voici un autre exemple : comprimons la base de l'oreille d'un lapin, avec deux bâtonnets en bois, et introduisons dans la veine marginale de cette oreille 0 c. c. 5 du filtrat colibacillaire. Après cinq ou six heures, libérons l'oreille de sa ligature et, vingt-quatre heures plus tard, injectons dans la veine marginale de l'oreille opposée 1 ou 2 cent. cubes du même filtrat microbien. Le lendemain, la réaction de Shwartzman se développe à l'oreille préparée. A ce moment, faisons, par la même voie, une deuxième injection de filtrat. Le plus souvent, l'animal meurt quelques heures plus tard et l'autopsie montre les hémorragies caractéristiques de Sanarelli. En se référant aux clichés, on constate une grande plaque hémorragique, avec nécrose, à la paroi antérieure de l'estomac (fig. 11); on trouve des taches semblables, mais moins marquées, dans les poumons (fig. 12); la rate est noire de sang infiltré. L'oreille présente une nappe hémorragique, couvrant environ 2/3 de sa surface (fig. 13).

Ici encore nous voyons qu'à l'aide de trois injections, dont une pratiquée dans un territoire vasculaire bien délimité et

les deux autres dans la circulation générale, on réalise d'emblée le phénomène de Sanarelli et de Shwartzman, mais avec cette différence que cette fois aucune de ces injections n'a été pratiquée ni dans le tissu viscéral, ni dans le tissu cutané. C'est donc la lésion vasculaire qui est primitive ; le tissu parenchymateux voisin n'est atteint que secondairement, par suite de l'épanchement sanguin consécutif à la rupture des capillaires.

Pour confirmer la participation de l'endothélium vasculaire à ces phénomènes hémorragiques, nous avons imaginé l'expérience suivante :

On sait que, lorsqu'on ponctionne la chambre antérieure de l'œil, l'humeur aqueuse est rapidement remplacée par un liquide de même composition que le sérum sanguin, ce qui atteste une augmentation de la perméabilité vasculaire du corps ciliaire. Ce fait a servi de point de départ à l'expérience suivante :

On ponctionne l'œil gauche d'un lapin et on retire environ 0 c. c. 25 d'humeur aqueuse ; immédiatement après, on injecte dans la circulation générale, par la veine auriculaire, 0,5 à 1 cent. cube de filtrat microbien (*B. coli* ou *B. de Morgan*). Après un délai de vingt-quatre heures, on injecte, par la même voie intraveineuse, 2 cent. cubes du même filtrat. Le lendemain, l'examen du segment antérieur de l'œil révèle déjà une forte dilatation des vaisseaux de l'iris et une injection ciliaire. On sacrifie l'animal et on inclut les deux yeux pour un examen histologique. Pour l'œil gauche ponctionné, les coupes révèlent une extravasation très marquée de globules rouges ; on voit nettement par place des ruptures dans les parois endothéliales des petits capillaires veineux. L'œil droit ne présente aucun de ces signes et paraît normal.

A titre de contrôle, nous avons refait ces examens histologiques sur des yeux de lapins témoins :

1° N'ayant pas subi de ponction de la chambre antérieure et ayant reçu : a) uniquement l'injection préparante ; b) les deux, préparante et déchaînante.

2° N'ayant subi que la ponction de la chambre antérieure, sans injection, ni préparante, ni déchaînante.

3° N'ayant subi ni ponction de la chambre antérieure, ni injection.

Aucun de ces contrôles ne présentait d'altérations hémorragiques.

4° Enfin, les lapins ayant reçu une injection préparante après la ponction de la chambre antérieure ont présenté de la congestion dans le corps ciliaire avec œdème, sans manifestations hémorragiques. C'est ici que nous pouvons saisir le mieux les modifications qui indiquent l'état de préparation correspondant, en somme, à une fragilisation du système vasculaire. La ponction de la chambre antérieure, en accentuant la perméabilité du corps ciliaire, y a créé un *locus minoris resistentie*, un endroit d'élection pour la production du phénomène hémorragique (fig. 14, 15, 16).

Pour conclure, nous croyons à présent pouvoir préciser le mécanisme du phénomène hémorragique de Sanarelli-Shwartzman de la façon suivante :

Lorsque l'injection préparante est faite directement dans le torrent sanguin ou dans les veines d'un territoire limité, la substance active traverse la membrane cellulaire endothéliale des vaisseaux capillaires et se fixe dans le tissu parenchymateux, une réaction inflammatoire locale s'installe et augmente la perméabilité des petits vaisseaux capillaires de la région intéressée. Lors de l'injection déchaînante, la toxine microbienne, arrivée à l'endroit préparé, accentue la lésion résultant de la première injection ; la rupture des capillaires se produit et l'hémorragie apparaît.

Si l'injection préparante est effectuée dans le parenchyme d'un viscère ou dans le tissu cutané, la substance active se fixe d'emblée sur le tissu et sur les capillaires qui le sillonnent. Mais elle n'atteint vraisemblablement pas l'endothélium des vaisseaux plus importants, protégés par une tunique adventice.

En définitive, la première injection a comme fonction de provoquer une lésion préparatoire au phénomène hémorragique.

La deuxième injection a comme fonction de déclencher l'hémorragie dans l'endroit préparé ; mais, en même temps, elle peut jouer le rôle d'injection préparante en créant ailleurs de nouvelles lésions préparantes.

Il n'existe donc pas de tropisme particulier dans ces réactions pour tel ou tel viscère ou organe, puisque l'hémorragie peut apparaître tantôt dans le poumon, tantôt dans le rein ou l'intestin, ou, encore, dans plusieurs organes à la fois.

Le seul « tropisme » que l'on puisse concevoir résulte de la sensibilité particulière de l'endothélium au produit bactérien ; mais la localisation à tel ou tel organe pourra résulter de circonstances parfois passagères telles que, par exemple, le ralentissement de la circulation au moment où le sang, chargé de substance active, se trouve dans l'une ou l'autre région. Ainsi, on verra fréquemment des lésions hémorragiques des ganglions lymphatiques correspondant à la région préparée.

Pour ne pas alourdir cet exposé, nous avons groupé en annexe les observations relatives à l'étude sommaire de l'histopathologie des lésions cutanées ou viscérales provoquées par le phénomène de Sanarelli-Shwartzman ; on y verra l'importance des altérations vasculaires.

INJECTION DÉCHAINANTE.

En parlant de l'injection préparante, nous avons déjà touché un mot de l'activité de l'injection déchainante. Nous avons pu remarquer qu'outre son pouvoir déclenchant, elle est capable, en même temps, de remplir le rôle de l'injection préparante. Pendant son passage dans le sang circulant, elle peut se fixer dans les tissus parenchymateux et y créer de nouvelles lésions préparantes. C'est là, sans doute, la véritable raison pour laquelle le filtrat déchainant, injecté sous la peau ou dans les muscles et retenu à l'endroit même de l'injection, n'arrive pas en concentration suffisante dans la circulation générale pour provoquer l'hémorragie.

Logiquement donc, c'est l'introduction du filtrat déchainant directement dans le sang par voie veineuse qui donne le maximum de chances de réussite. Mais, cependant, même dans ces conditions, il arrive que la réaction désirée ne se produit pas. On dit alors que l'animal n'est « pas sensible » au phénomène hémorragique. Or, dans ces cas d'insuccès, lorsque nous répétons l'injection intraveineuse, la réaction hémorragique apparaît non seulement à la peau qui n'avait pas réagi la veille, mais aussi dans les viscères. Nous avons cité plus haut des exemples de ce fait que l'on peut répéter à l'infini.

Ils démontrent que l'on ne peut considérer l'animal qui

n'a pas réagi à la première injection déchaînante comme insensible au phénomène hémorragique, puisqu'il a répondu à la seconde injection intraveineuse, comme pour un Sanarelli classique.

Nous croyons donc que la réaction de Sanarelli-Shwartzman est conditionnée par l'activité propre de la toxine injectée et par son aptitude à léser l'endothélium, bien plus que par la sensibilité de l'animal en expérience.

Quelles sont maintenant les autres voies pouvant être utilisées pour l'introduction de l'injection déchaînante ?

Frish [34], collaborateur de Shwartzman, puis H. Gross [35] ont signalé qu'il est possible de déclencher le phénomène hémorragique en introduisant l'injection déchaînante dans la cavité péritonéale. Ce fait a été confirmé par Gratia et Linz [22], par P. Bordet [46] et d'autres encore.

Nous avons démontré [36], d'autre part, que le canal rachidien peut être aussi utilisé efficacement comme voie d'introduction, et cela quel que soit le mode de préparation utilisé : dermique, vasculaire locale ou générale, ou même rachidienne.

Voici le protocole d'une expérience bien démonstrative :

Sur un lot de 24 lapins de 2 à 3 kilogrammes, 10 reçoivent 0 c. c. 5 de filtrat colibacillaire dans le derme du flanc ou de la cuisse ; 10 autres reçoivent 1 cent. cube du même filtrat par voie intraveineuse ; 4, enfin, reçoivent 0 c. c. 5 du filtrat dans le canal rachidien. Vingt-quatre heures plus tard, à tous les animaux, on injecte, par voie sous-occipitale, dans le liquide céphalo-rachidien, 0,5 ou 1 cent. cube de filtrat, suivant la quantité de liquide extrait. Le lendemain, dans la première série (type Shwartzman), nous trouvons chez 8 lapins une réaction hémorragique intense à l'endroit de l'injection préparante. Dans la deuxième série (type Sanarelli), 5 lapins sont morts, 3 malades et 2 bien portants. L'autopsie des 5 animaux morts révèle des lésions hémorragiques dans les poumons et l'intestin et de la congestion des reins. 2 des 3 lapins malades ont été sacrifiés. Chez ceux-ci, nous avons trouvé des taches hémorragiques dans les poumons, l'intestin et l'épiploon. 1 des 2 lapins bien portants a été sacrifié ; il ne présentait aucune lésion hémorragique. Des 4 lapins qui ont reçu les deux injections dans le canal rachidien, 2 sont morts et, à l'autopsie, nous avons constaté des hémorragies très importantes dans les poumons.

Nous voyons donc que si la voie veineuse est la voie de choix de l'injection déchaînante, on peut aussi utiliser efficacement la voie péritonéale ou la voie rachidienne.

Un point laissé en suspens par les auteurs qui se sont occupés de la question est celui de savoir si le phénomène peut être déclenché par voie sous-cutanée ou musculaire. Nous avons pu démontrer, dès 1935, que c'est possible, à condition d'employer la technique de préparation locale vasculaire [17].

Chez 4 lapins, l'injection préparante du filtrat colibacillaire est faite par voie vasculaire dans l'oreille préalablement ligaturée. Après six heures, la ligature est levée et l'injection déchaînante est faite non par voie veineuse, mais sous la peau du ventre. Dans ces conditions expérimentales, les 4 lapins ont répondu, d'une manière très frappante, par une éruption purpurique et des taches hémorragiques de l'oreille préparée.

Dans une autre épreuve, effectuée également sur 4 lapins, nous avons introduit l'injection déchaînante respectivement sous la peau, les muscles, les veines ou dans le péritoine, immédiatement après avoir pratiqué l'injection préparante dans le système vasculaire de l'oreille liée.

Après six heures, la ligature est enlevée, la circulation se rétablit.

Le lendemain, la réaction de Schwartzman est apparue, à des degrés différents, chez les 4 animaux.

La quantité de colitoxine passée dans la circulation générale a donc été suffisante pour provoquer la réaction hémorragique dans les capillaires vasculaires bien imprégnés de filtrat préparant, même lorsque la déchaînante a été faite par voie hypodermique. Nous sommes arrivé au même résultat, nous allons le voir, en employant les cultures vivantes [37] ou tuées [38] au lieu de filtrat, et cela sans utiliser la préparation vasculaire locale.

RÉACTION DE SHWARTZMAN

PAR VOIE SOUS-CUTANÉE ET INTRAMUSCULAIRE

A L'AIDE DE CULTURES MICROBIENNES.

Nous venons de voir que l'injection déchaînante peut être effectuée par la voie sous-cutanée si la préparation locale a été particulièrement sévère. Dès lors, il paraissait légitime de réaliser cette préparation locale au moyen de cultures microbiennes, celles-ci continuant à déverser sur place les produits toxiques qu'elles élaborent.

EXPÉRIENCE 1. — A 2 lapins adultes de 1.700 grammes environ, nous injectons, dans le derme du flanc droit, 0 c. c. 3 d'une culture de *B. coli* V en bouillon, âgée de vingt-quatre heures. Après une vingtaine

d'heures, nous injectons, sous la peau de la cuisse gauche, 3 cent. cubes de filtrat de bacille de Morgan 14, provenant d'une culture en bouillon de six jours. Après huit heures, nous constatons que, chez l'un des animaux, la réaction de Shwartzman est fortement prononcée ; la tache hémorragique, située au niveau de l'injection préparante, mesure de 4 à 5 centimètres de diamètre. Chez l'autre, la tache est érythémateuse, avec le léger œdème caractéristique de la zone préparée, mais sans lésion hémorragique.

EXPÉRIENCE 2. — A 6 lapins de 1.400 à 1.500 grammes, nous injectons, dans le derme du flanc gauche, 0 c. c. 3 de culture de bacille de Morgan en bouillon de quarante-huit heures et, vingt-quatre heures plus tard, sous la peau de la cuisse droite, 3 cent. cubes de filtrat de culture de *B. coli* V en bouillon, âgée de six jours. De nombreux points purpuriques apparaissent, à l'endroit de la première injection, chez un des animaux après trois heures, chez un autre après cinq heures. Le lendemain, chez ces 2 lapins, la réaction se montre sous forme de larges nappes hémorragiques. Les 4 autres lapins n'ont pas réagi.

EXPÉRIENCE 3. — A 4 lapins de poids sensiblement égal (1.400 grammes), nous injectons, dans la peau du flanc, 0 c. c. 3 de culture de *B. coli* V. Quatorze heures plus tard, nous pratiquons, dans les muscles fessiers, l'injection déchaînante à raison de 2 cent. cubes de filtrat de bacille de Morgan. Après sept heures, la réaction hémorragique est fortement positive chez 1 lapin, faible chez 1 autre, tandis qu'elle est négative chez les 2 derniers.

Pareilles expériences, répétées plusieurs fois, nous ont donné des résultats analogues, avec une régularité surprenante. Il va sans dire que les témoins éprouvés par de simples injections aux mêmes doses, dermiques chez les uns, hypodermiques ou intra-musculaires chez les autres, n'ont présenté, dans aucun cas, de lésions hémorragiques visibles. Les seuls symptômes sont des inflammations locales banales, avec infiltrations œdémateuses, qui disparaissent d'ailleurs en deux ou trois jours, en laissant, le plus souvent, de petits abcès qui guérissent assez rapidement.

De ces faits, il apparaît que, lorsque l'injection préparante est effectuée avec une culture, l'état de préparation locale est plus accentué ; peut-être sa tendance à la guérison est-elle moins marquée. Ceci expliquerait que les quantités de toxine entraînées par la circulation, après l'injection sous-cutanée ou intramusculaire, sont suffisantes pour déterminer la dislocation de la paroi endothéliale des capillaires, quoique ces quantités

soient beaucoup plus faibles que celles apportées plus brutalement par l'injection intraveineuse. Toutefois, on aurait pu s'attendre à une proportion de résultats positifs plus élevée, car la production de toxine pendant plusieurs heures à l'endroit préparé devait, semble-t-il, dans tous les cas, déterminer un état de préparation plus sévère.

Or, si l'on répète les mêmes expériences sur 16 lapins, en substituant aux cultures vivantes de colibacille ou de bacille de Morgan des cultures tuées par un chauffage d'une heure à 60°, on obtient des résultats qui ne le cèdent en rien aux précédents puisque 8 lapins donnent des réactions hémorragiques caractéristiques.

Il est superflu d'ajouter que les témoins inoculés une seule fois par voie dermique, hypodermique ou musculaire, aux mêmes doses, avec les cultures tuées, n'ont présenté que de l'érythème avec infiltration inflammatoire.

Le problème est donc plus complexe que nous ne l'avions supposé au premier abord et l'on devait se demander si l'endotoxine de germes tels que le colibacille et le bacille de Morgan ne jouent pas un rôle prépondérant dans les deux phases du phénomène hémorragique.

LA RÉACTION DE SHWARTZMAN ET LES ENDOTOXINES MICROBIENNES.

Pour élucider ce point, il était nécessaire de refaire ces expériences avec des endotoxines. Nous avons utilisé [39] l'endotoxine du bacille de Morgan, préparée suivant le procédé de Boivin et Mesrobeanu [40].

EXPÉRIENCE 1. — Nous préparons 6 lapins de même poids (1.500 grammes) en leur injectant, dans le derme du flanc, 0 c. c. 5 de la dilution au 1/10 d'endotoxine de bacille de Morgan. Après un intervalle de vingt-quatre heures, nous leur injectons, sous la peau de la cuisse, la même endotoxine, diluée au 1/10, à raison de 1 cent. cube par kilogramme d'animal. Au bout de trois à sept heures, nous voyons se développer, à l'endroit de l'injection dermique, une réaction hémorragique de Shwartzman, fortement prononcée chez 4 lapins, moins marquée chez le cinquième, nulle chez le sixième.

EXPÉRIENCE 2. — Nous préparons 6 autres lapins de poids variable (1.500 à 2.000 grammes) et nous leur injectons, dans le derme du flanc, la même endotoxine diluée au 1/10 à la dose de 0 c. c. 5.

Vingt-quatre heures plus tard, nous inoculons, dans les muscles de la cuisse, 1 cent. cube de la solution d'endotoxine par kilogramme d'animal. Quelques heures plus tard, nous trouvons une forte réaction hémorragique chez 3 lapins, moins forte chez les 2 suivants ; le dernier n'a manifesté qu'une simple rougeur.

EXPÉRIENCE 3. — Enfin, dans une autre série de 8 lapins de poids sensiblement égal 1.550 à 1.600 grammes), nous injectons, dans le derme de la cuisse, 0 c. c. 5 d'endotoxine, comme pour les expériences précédentes. Après vingt-quatre heures, nous pratiquons l'injection déchaînante hypodermique, non plus avec l'endotoxine, mais avec un filtrat de bacille de Morgan, provenant d'une culture de six jours en bouillon, à la dose de 3 cent. cubes par animal. Cinq heures plus tard, 3 des lapins avaient déjà réagi classiquement et, le lendemain, 2 nouveaux lapins manifestaient aussi des réactions hémorragiques typiques. Les 3 autres lapins n'ont pas réagi.

Ces trois types d'expériences, répétées plusieurs fois, nous ont donné des résultats analogues.

De ces observations, on peut conclure que l'endotoxine est capable de préparer et de déclencher le phénomène hémorragique. Mais, et ceci la différencie des filtrats généralement utilisés, elle peut déclencher par voie sous-cutanée et intra-veineuse. C'est vraisemblablement par elle que les cultures vivantes ou tuées peuvent engendrer les réactions hémorragiques que nous avons observées dans nos expériences précédentes. Il n'est pas douteux que leur aptitude à amorcer la lésion capillaire est particulièrement développée, car la proportion de résultats positifs (15 sur 20) est sensiblement plus élevée que dans les essais pratiqués avec les filtrats de cultures en bouillon.

LES TOXINES MICROBIENNES

ET LEUR RÔLE DANS LES PHÉNOMÈNES HÉMORRAGIQUES.

Avant d'exposer les recherches ayant pour but de comparer l'action des endotoxines et celle des exotoxines dans les phénomènes hémorragiques, nous croyons qu'il n'est pas inutile de rappeler quelques notions. Certaines d'entre elles, déjà anciennes, sont devenues classiques ; d'autres résultent d'acquisitions récentes.

Les exotoxines sont des substances qui diffusent rapidement hors du corps microbien ; pour les obtenir, on filtre, sur bougie de porcelaine, soit une culture en bouillon, soit l'émulsion

en bouillon (ou en eau physiologique) d'une culture sur gélose.

Les endotoxines, au contraire, demeurent fixées dans les corps bactériens, aussi longtemps que ceux-ci restent intacts. Pour obtenir les endotoxines en solution, il faut désorganiser les cellules microbiennes en les soumettant à un broyage minutieux, ou bien en leur faisant subir une série de manipulations chimiques ou physiques ou, enfin, en les abandonnant à l'autolyse prolongée.

La nature chimique des exotoxines est encore, à l'heure actuelle, en pleine étude. Ces substances, jusqu'à présent, ne paraissent pas avoir été obtenues à l'état absolument pur. On peut précipiter l'exotoxine par l'action de divers sels métalliques ou de divers acides et la séparer de la grande majorité des matières inactives du filtrat exotoxique. On obtient de la sorte des préparations qui donnent nettement les réactions des albumines et qui représentent, semble-t-il, le principe actif en question. A en juger par le fait qu'elles ne dialysent que très difficilement, qu'elles sont précipitées comme des protéines par les réactifs chimiques et qu'elles sont plus ou moins détruites par les diastases protéolytiques, on est donc en droit de penser, et c'est l'opinion généralement admise, que les exotoxines sont des protéines.

Quant à la constitution chimique des endotoxines, les renseignements, jusqu'à ces toutes dernières années, étaient extrêmement rares et, dans l'ignorance totale où l'on était, on leur attribuait également une nature protéique.

Mais, depuis les remarquables travaux de Boivin et de Mesrobeanu [41], de Raistrick et Topley [42], de Delafield [43], de Martin [44], pour ne citer que les plus importants, la nature des endotoxines s'est considérablement précisée.

C'est à Boivin et Mesrobeanu que revient le grand mérite d'avoir, les premiers, dès 1933, isolé du bacille d'Aertrycke l'endotoxine à l'état le plus voisin possible de la pureté chimique ; ils ont montré, en outre, qu'elle n'a aucun rapport de structure avec les protéines et qu'elle est, par conséquent, totalement différente de l'exotoxine. L'endotoxine est, tout au moins chez les bactéries à Gram négatif, un complexe glucido-lipidique résultant essentiellement de l'union d'un polysaccharide avec des acides gras.

Peu de temps après, en 1934, Raistrick et Topley, utilisant une technique différente, ont isolé du même germe une substance dont la structure chimique et les propriétés biologiques sont identiques à celles de l'endotoxine de Boivin et Mesrobeanu.

Depuis 1933, Boivin et ses collaborateurs ont pu extraire des endotoxines glucido-lipidiques de nombreuses autres bactéries : les bacilles typhiques, paratyphiques, dysentériques, le vibrion cholérique, etc. Leur technique d'extraction par l'acide trichloracétique est devenue classique en raison de sa simplicité et de la régularité des résultats qu'elle donne. C'est ainsi que Huddleson et Pennell [45] (États-Unis) et Lisbonne et Monnier [46] (France) ont appliqué la méthode aux *Brucella*. Nous-même l'avons utilisée pour préparer l'endotoxine du bacille de Morgan. Le lecteur désireux de plus amples détails trouvera, dans le récent Traité de Bactériologie et Immunologie de Topley et Wilson [47] et dans les travaux originaux de Boivin et Mesrobeanu [48] un historique complet et un exposé de la question des toxines bactériennes qui alourdirait inutilement cette étude.

Nous nous bornerons à indiquer brièvement les éléments fondamentaux de la technique.

Les bactéries sont cultivées sur gélose pendant vingt à vingt-quatre heures à 37°. On les recueille en lavant la culture à l'eau physiologique ; on les sépare par centrifugation à grande vitesse et on les lave, à deux ou trois reprises, par de nouvelles centrifugations, soit avec de l'eau physiologique, soit avec de l'eau distillée. On obtient une purée bactérienne dont on évalue le poids et qu'on émulsionne dans l'eau, de telle sorte que 1 cent. cube de suspension renferme une quantité connue de microbes frais (usuellement 200 milligrammes). On double le volume de cette suspension avec l'acide trichloracétique demi-normal, on agite et on laisse en contact pendant environ trois heures à la glacière. Puis on centrifuge à grande vitesse, pour se débarrasser des cadavres bactériens qui ont été fixés par les réactifs déprotéinisants, et on obtient un extrait trichloracétique qu'on dialyse pendant quarante-huit heures contre un courant d'eau ordinaire. La dialyse est poursuivie pendant vingt-quatre heures encore, contre un grand volume d'eau distillée. On recueille le contenu des sacs à dialyse, qui se présente sous l'aspect d'une solution d'autant plus opalescente que la richesse en endotoxine est plus grande. Les endotoxines ainsi obtenues sont filtrées à travers une bougie L 3 et sont alors prêtes pour l'emploi.

Quant aux exotoxines, Boivin [49] est arrivé, dès 1936, à les séparer également des filtrats de cultures.

Le principe de la méthode est le suivant : l'acide trichloracétique permet de séparer aisément les endotoxines des protéines bacillaires : sous son action, l'endotoxine passe en solution, tandis que les protéines des corps bacillaires sont précipitées.

L'exotoxine, en tant que protéine, est entraînée dans le même précipité. De ce fait, le même réactif permet donc de purifier les exotoxines en les séparant des endotoxines éventuellement présentes dans les filtrats et des substances étrangères du bouillon de culture.

TECHNIQUE. — On détermine d'abord le volume d'acide trichloracétique normal qu'il faut ajouter à 10 cent. cubes de filtrat en expérience, pour amener le pH vers 3,5 et pour déclencher l'apparition d'un précipité se déposant bien par centrifugation. L'opération est alors pratiquée sur la totalité du filtrat d'après les données de l'essai préliminaire. On agite un instant et on laisse au repos pendant une dizaine de minutes. On centrifuge à grande vitesse, puis on rejette le liquide qui surnage. On dissout aussitôt le précipité à froid dans un petit volume de solution alcaline. La solution obtenue est ramenée au volume primitif du filtrat par adjonction d'eau physiologique et on filtre sur bougie L 3.

On sait que Schwartzman utilisa pour ses recherches des filtrats contenant l'exotoxine et provenant soit de cultures de six jours en bouillon, soit de cultures de vingt-quatre heures sur gélose.

C'est d'ailleurs la conviction de Schwartzman lui-même, et c'est pour cette raison qu'il conclut que le principe actif du filtrat doit être une exotoxine.

Au contraire, pour F. Burnet, ce sont les filtrats de vieilles cultures en bouillon qui donnent les réactions hémorragiques les plus marquées. Pour lui, le principe actif est une endotoxine. Il base son argument sur le fait que l'endotoxine typhique, préparée par la méthode de Besredka, donne des hémorragies plus intenses si on les compare avec celles qu'on obtient avec des filtrats ordinaires.

Gratia et Linz ont pu vérifier, en utilisant la même méthode d'extraction, la grande activité de l'endotoxine de *B. coli* V et confirmer l'opinion de Burnet.

Shwartzman, tout en reconnaissant l'effet hémorragique de l'endotoxine, ne lui a pas attribué de supériorité et a estimé qu'il pouvait se contenter de l'exotoxine pour poursuivre ses expériences.

Or, les expériences que nous avons effectuées, à l'aide des cultures vivantes et tuées, nous ont donné l'occasion d'entrevoir l'importance particulière de l'action de l'endotoxine dans la production des réactions hémorragiques et nous avons vu qu'elle possédait, à un très haut degré, l'aptitude à préparer le phénomène de Shwartzman.

C'est pourquoi il nous a paru intéressant de refaire les expériences les plus importantes dans le but, cette fois, de mettre en parallèle les résultats obtenus par l'emploi de l'exotoxine et de l'endotoxine, la concentration de celles-ci étant calculée d'après le poids des corps microbiens des cultures d'origine.

Nous avons d'abord comparé l'effet déclenchant de l'endotoxine et de l'exotoxine de Boivin, introduites par voie hypodermique et musculaire, chez les lapins préparés par injection intradermique avec les toxines correspondantes. Nous avons observé que seuls les lapins préparés et déclenchés par l'endotoxine donnent une réaction hémorragique constante. Par contre, les lapins préparés et déclenchés par l'exotoxine ne réagissent pas.

EXPÉRIENCE 1. — On ensemence, de bacille de Morgan 14, 2 boîtes de Roux contenant de la gélose. Après vingt heures d'incubation, on recueille la culture et on procède à l'extraction de l'endotoxine par l'acide trichloracétique. On dialyse l'extrait et on le filtre sur bougie. Le filtrat obtenu est ensuite dilué dans 200 cent. cubes d'eau physiologique.

A un lot de 4 lapins, nous injectons, dans la peau du flanc, 0 c. c. 5 de cette endotoxine. Après vingt-quatre heures, nous injectons le même produit à la dose de 2 cent. cubes. 2 de ces lapins reçoivent l'injection sous la peau de la cuisse, 2 autres dans les muscles. Au bout de quelques heures, les 4 animaux ont présenté la réaction hémorragique à la peau du flanc préparée par la première injection.

EXPÉRIENCE 2. — On ensemence un ballon contenant 200 cent. cubes de bouillon avec le même germe qui a servi pour la première expérience. Après incubation de six jours, on filtre la culture et on procède à l'extraction de l'exotoxine par l'acide trichloracétique. On obtient un précipité qu'on dissout ensuite dans 200 cent. cubes d'eau physiologique.

A un lot de 6 lapins, nous injectons 0 c. c. 5 de cette exotoxine

dans la peau du flanc. Vingt-quatre heures après, à 2 des lapins, nous injectons 2 cent. cubes d'exotoxine sous la peau de la cuisse, à 2 autres dans les muscles, et à 2 autres dans les veines. Déjà, après trois heures, ces 2 derniers ont présenté une forte réaction hémorragique à l'endroit de l'injection préparante. Les 4 premiers, qui avaient reçu l'injection déchaînante sous la peau et dans les muscles, n'ont pas réagi ni le jour même, ni les jours suivants.

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons combiné de plusieurs manières la préparation et le déclenchement avec les deux espèces de toxines.

Nous avons constaté, en outre, que la réaction hémorragique peut être déclenchée avec l'exotoxine par voie hypodermique et musculaire, si la préparante a été faite avec l'endotoxine, et qu'on peut déclencher avec l'endotoxine par les mêmes voies, si l'injection préparante a été faite avec l'exotoxine.

Voici un des protocoles de ces expériences :

EXPÉRIENCE 3. — A un lot de 12 lapins, nous injectons, dans la peau du flanc, 0 c. c. 5 d'endotoxine. Après vingt-quatre heures, nous injectons à 6 lapins 2 cent. cubes d'exotoxine sous la peau de la cuisse, et, à 6 autres, la même dose dans les muscles de la cuisse. Le lendemain, dans le premier groupe, nous constatons une réaction hémorragique prononcée chez 3 lapins. Dans le second groupe, 2 seulement ont présenté la réaction. 7 lapins n'ont pas réagi.

EXPÉRIENCE 4. — A un nouveau lot de 12 lapins, nous injectons, dans la peau du flanc, 0 c. c. 5 d'exotoxine. Après vingt-quatre heures, nous déclenchons avec 2 cent. cubes d'endotoxine, chez 6 lapins par voie hypodermique, chez 6 autres par voie musculaire. Le lendemain, 5 lapins du premier groupe et 3 du second groupe ont présenté la réaction hémorragique. 4 sont restés indemnes.

On a donc l'impression que l'endotoxine exerce, sur l'endothélium des capillaires, une action plus profonde que l'exotoxine puisque, d'une part, la lésion préparée par elle est sensible aux faibles quantités d'exotoxine qui passent dans la circulation à la suite des injections sous-cutanées ou intramusculaires, et que, d'autre part, l'endotoxine introduite par ces mêmes voies est capable de déclencher l'hémorragie à l'endroit préparé par l'exotoxine. Si l'on pratique simultanément deux injections préparantes, une avec l'endotoxine et l'autre avec l'exotoxine, comment apparaîtra la réaction après injection déchaînante d'endo ou d'exotoxine par voie hypodermique ou musculaire ?

EXPÉRIENCE 5. — A 5 lapins, nous injectons, dans la peau du flanc, 1 cent. cube d'endotoxine du côté droit et 1 cent. cube d'exotoxine du côté gauche. Après vingt-quatre heures, nous pratiquons l'injection déchaînante, en introduisant, sous la peau de la cuisse, 3 cent. cubes d'endotoxine. Cinq heures plus tard, nous constatons que 2 des lapins présentent déjà une réaction hémorragique prononcée du côté préparé à l'endotoxine. Le lendemain, 2 autres lapins ont réagi à leur tour. Mais, de plus, 1 des lapins qui présentait la veille la réaction du côté endotoxine la présente maintenant aussi du côté exotoxine. Le cinquième n'a manifesté que de la congestion inflammatoire locale, avec œdème considérable, sans hémorragie.

EXPÉRIENCE 6. — Enfin, à 4 lapins, nous pratiquons les mêmes injections préparantes que précédemment. Mais, après vingt-quatre heures, nous injectons, sous la peau de la cuisse, 3 cent. cubes d'exotoxine au lieu d'endotoxine. Sept heures plus tard, on trouve déjà l'hémorragie, sur le côté préparé avec l'endotoxine, chez 1 des lapins. Le lendemain, un deuxième lapin présente la réaction du même côté. Les 2 autres manifestent la réaction de Shwartzman typique, des deux côtés à la fois.

Il ne faut pas oublier que, dans ces expériences, l'introduction simultanée d'endotoxine et d'exotoxine, quoique effectuée en deux régions séparées, sera suivie d'une résorption qui amènera fatalement de l'endotoxine au niveau de la peau préparée par l'exotoxine et réciproquement.

Il n'en est pas moins évident que l'endotoxine active à la fois l'action préparante et l'action déchaînante de l'exotoxine, en ce sens qu'elle détermine ou qu'elle accentue des phénomènes hémorragiques que l'exotoxine seule est impuissante à déclencher par les voies cutanée et musculaire, comme nous l'avons vu plus haut.

En voici encore un exemple démonstratif :

EXPÉRIENCE 7. — Nous préparons 2 lapins en leur injectant, dans la peau de la cuisse gauche, 1 cent. cube d'exotoxine. Après vingt-quatre heures, nous injectons, sous la peau du ventre, 2 cent. cubes de la même exotoxine. Au bout de vingt-quatre heures, la réaction ne s'est pas produite. On pratique alors une injection de 2 cent. cubes d'endotoxine sous la peau du dos, loin des deux premières injections. Six heures plus tard, une réaction considérable apparaît à l'endroit de la première injection déchaînante pratiquée avec l'exotoxine. Elle envahit tout le tissu dermique de la paroi abdominale et le péritoine pariétal. De plus, une petite réaction locale se voit à l'endroit de la première injection préparante qui, datant de quarante-huit heures, a déjà subi un commencement de réparation.

En somme, toute cette dernière série d'expériences concourt à démontrer que l'on peut reproduire, avec l'endotoxine et l'exotoxine, toutes les constatations déjà faites auparavant avec les cultures et leurs filtrats. Mais elles offrent le grand avantage de constituer un matériel expérimental très voisin de la pureté chimique et de permettre, par conséquent, des interprétations plus précises.

En conclusion, le principe actif de la réaction de Shwartzman n'est pas encore isolé, si tant est qu'il soit isolable.

Nous avons montré qu'il doit être contenu dans les cultures vivantes, les cultures tuées, les filtrats qui ont servi de base aux premières recherches.

Puis, nous nous sommes efforcé de rétrécir le champ d'investigation en montrant que, dans ces cultures et ces filtrats, la partie seule active est l'endo- et l'exotoxine, isolées et purifiées grâce à la méthode de Boivin et Mesrobianu, et nous avons vu que l'activité de l'endotoxine est beaucoup plus développée que celle de l'exotoxine.

L'endotoxine et l'exotoxine sont-elles, comme nous le pensons, les principes actifs de Sanarelli-Shwartzman, ou bien toutes deux renferment-elles une substance distincte, le principe actif, non encore isolé ? C'est ce que nous espérons pouvoir résoudre au cours de recherches ultérieures.

ETUDE HISTOLOGIQUE DES LÉSIONS

PROVOQUÉES PAR LE PHÉNOMÈNE DE SANARELLI-SHWARTZMAN.

Nous n'avons pas la prétention d'avoir effectué une étude histologique approfondie des lésions que l'on observe au cours du phénomène de Sanarelli-Shwartzman ; elle n'est pas de notre compétence ; cependant, il nous semble que les observations sommaires que nous avons pu faire grâce à l'aide amicale de M. M. Herlant et de M^{lle} E. Claes, apportent quelques éclaircissements au mécanisme des phénomènes hémorragiques et peuvent constituer une base de départ pour de nouvelles recherches.

Ces examens histologiques ont porté sur la peau des animaux soumis à des injections préparantes, sur la peau de ceux qui ont subi des injections déchaînantes et aussi, dans

ces derniers cas, sur des organes viscéraux, le poumon, le foie, le rein et les capsules surrénales.

Nous ne décrivons ici que les lésions histologiques élémentaires que nous avons été à même de constater.

I. — *Injections préparantes.*

Nous avons examiné des fragments de peau prélevés au voisinage du lieu d'inoculation du filtrat microbien, quatre heures, huit heures, seize heures et soixante-douze heures après l'injection.

Quatre heures après l'injection, le derme présente un œdème considérable qui dissocie les fibres élastiques. A ce stade, les modifications vasculaires sont faibles, les capillaires sont légèrement dilatés, quelques polynucléaires infiltrent le derme.

Des thromboses apparaissent déjà dans les veines profondes du derme. La paroi interne de la veine est entièrement tapissée de polynucléaires, certains d'entre eux s'insinuent entre les tuniques de la veine.

Neuf heures après l'injection, l'œdème est intense, les capillaires se dilatent davantage, leur endothélium est tapissé de polynucléaires. Ces derniers infiltrent le derme en grand nombre. Les éosinophiles prédominent.

Seize heures après l'injection, les capillaires veineux et les veinules sont distendus. L'infiltration inflammatoire est toujours très marquée ; elle est uniquement composée de polynucléaires.

On voit la formation très nette de thrombi granuleux au niveau de certaines veines. Ces thrombi s'attachent fortement à la paroi de la veine.

Soixante-douze heures après l'injection, l'œdème a pris fin. Il n'y a plus de dissociation du derme qui est revenu sur lui-même.

Les capillaires veineux ont repris un calibre normal sans que l'on puisse distinguer des lésions des cellules endothéliales par les méthodes histologiques ordinaires que nous avons employées. Certaines cellules endothéliales sont recouvertes de granulations et en contiennent même dans leur cytoplasme.

On trouve également dans ces vaisseaux des cellules monocytaires qui contiennent des inclusions dont nous ne pouvons préciser la nature. Jamais, à ce stade, nous n'avons surpris de mitoses qui puissent nous faire songer à des phénomènes de régénération au niveau de l'endothélium.

L'infiltration inflammatoire s'est ramassée dans la profondeur du derme où elle est en voie de nécrose. Entre les faisceaux du derme, on voit apparaître des nuées de monocytes.

Les thromboses persistent toujours au niveau de certains troncs veineux.

Contrairement aux capillaires veineux de petit calibre, ces troncs veineux contiennent des globules rouges en abondance, qui sont retenus dans les mailles des thrombus.

A la suite d'une injection préparante, on assiste à une très forte hyperémie passive du derme : jamais, au cours de ces expériences, on ne voit d'extravasations de globules rouges, si minimes soient-elles, et les capillaires sont toujours modérément remplis d'hématies.

II. — *Injectons déchaînantes.*

Peau. — Des fragments de peau ont été prélevés cinq heures après l'apparition de la réaction hémorragique, au niveau de l'oreille et au niveau de la peau du flanc.

A. *Peau de l'oreille.* — La vasodilatation passive est très marquée. Les veinules et les capillaires veineux sont très fortement dilatés. Ils sont remplis de globules rouges cette fois et cette condition permet de les différencier de l'état qu'ils offraient à la suite de la réaction préparatoire. De plus, on distingue, en de nombreux endroits, des extravasations sanguines, plus ou moins importantes dans le derme.

De nombreux polynucléaires franchissent l'endothélium et se répandent dans les cloisons.

L'endothélium de ces capillaires est aplati et nous n'avons relevé aucune lésion pathologique à ce niveau.

Les capillaires artériels sont sans particularité.

B. *Peau du flanc.* — Les phénomènes sont identiques.

L'œdème et la congestion passive sont considérables. On constate la présence de nombreuses extravasations sanguines autour des vaisseaux de petit calibre et une importante diapédèse de polynucléaires.

Nous n'avons pas observé davantage de modifications des endothéliums.

En coupe tangentielle, on voit nettement les extravasations sanguines autour de chaque peloton vasculaire des papilles du derme et l'on voit également que la distension et les extravasations se font aux dépens des zones veineuses du peloton glomérulaire.

En résumé, le phénomène nouveau est constaté par l'apport de très nombreux globules rouges et leur extravasation aux dépens des vaisseaux de petit calibre dans le derme environnant. L'aspect est identique au niveau de la région injectée et à distance. L'infiltration des cellules inflammatoires est très comparable à celle que nous avons observée à la suite de la réaction préparante cutanée.

Pour saisir histologiquement le moment précis où, à la suite des injections déchaînantes, apparaissent des hémorragies, nous avons prélevé des fragments de peau une heure, deux heures, trois heures, quatre heures, cinq heures et vingt-quatre heures après la réaction déchaînante.

Ces injections ont été pratiquées vingt-quatre heures après la préparante et suivant la méthode de Shwartzman, les unes avec du filtrat de *B. coli*, les autres avec du filtrat de Morgan.

Une heure après, on n'aperçoit pas encore d'extravasations sanguines ; les capillaires veineux sont dilatés et gorgés de globules rouges ; on remarque une très forte infiltration inflammatoire à polynucléaires, avec prédominance d'éosinophiles en tous points semblable à celle que provoque l'injection préparante. Elle ne résulte donc pas de l'injection déchaînante.

Deux heures après, se manifestent les premières extravasations sanguines, elles sont encore discrètes, elles apparaissent sous l'aspect de petits amas d'hématies qui se répandent dans le stroma prévasculaire.

A la troisième heure, les extravasations sont à peine plus prononcées, elles ne s'accusent nettement qu'à la quatrième et cinquième heure, suivant l'injection. A ce moment, des nappes

de globules rouges envahissent le derme, principalement au niveau des papilles dermiques.

Les extravasations semblent prendre naissance en premier lieu, aux dépens des capillaires moyens.

Vingt-quatre heures après l'injection déchaînante, les hémorragies sont acquises et les images histologiques sont comparables à celles décrites précédemment.

A mesure que les extravasations s'accroissent, l'infiltration inflammatoire diminue, elle est moins intense vingt-quatre heures après l'injection déchaînante que huit heures après l'injection préparante.

A tous ces stades, nous avons observé des thrombi au niveau des veines profondes du derme. Ils présentent les mêmes caractères histologiques que ceux que nous avons observés à la suite des injections préparantes. Au centre du thrombus, on note la présence de nombreux polynucléaires en voie de destruction. Ils sont donc, selon toute vraisemblance, le résultat de l'injection préparante.

En résumé, les extravasations sanguines font leur apparition deux heures après une injection déchaînante, mais ne deviennent importantes que quatre à cinq heures après cette injection.

Les infiltrations inflammatoires à polynucléaires que l'on constate au niveau du derme après l'injection déchaînante, préexistent à cette injection et se produisent à la suite de la préparante.

EXAMEN HISTOLOGIQUE DES ORGANES VISCÉRAUX.

Cette étude a porté sur les ganglions lymphatiques, les poumons, le rein et les capsules surrénales.

Nous ferons, à la suite de la description des lésions de ces divers organes, une mention toute particulière des altérations que nous avons constatées au niveau du foie et qui nous ont paru présenter un grand intérêt.

Tous ces organes ont été prélevés cinq à six heures après la réaction déchaînante, soit au moment où le phénomène hémorragique était bien reconnaissable microscopiquement.

GANGLIONS. — Lorsque nous avons pratiqué une injection préparante au niveau de la cuisse, nous avons prélevé les ganglions fessiers après le déclenchement du phénomène par voie veineuse.

Lorsque la réaction est positive, les ganglions sont hypertrophiés ; ils présentent microscopiquement une forte hyperémie et même des suffusions hémorragiques.

Nous avons, de plus, prélevé des ganglions viscéraux lorsqu'ils nous sont apparus hyperémiés et hémorragiques, soit après un Shwartzman, soit après un Sanarelli.

Quel que soit le siège du prélèvement, on observe, à faible grossissement, que l'hypertrophie que l'on constate macroscopiquement, est due non point à une hyperplasie et à une multiplication des centres germinatifs, mais bien à une dilatation considérable des sinus et particulièrement des sinus médullaires. Ces sinus sont béants, ils contiennent une quantité modérée de globules rouges libres, mais un très grand nombre de monocytes de très grande taille, entièrement bourrés d'hématies en voie de lyse. Les cellules réticulaires elles-mêmes ont également phagocyté des hématies.

La zone corticale est refoulée à la périphérie. Elle est mince et les follicules sont difficiles à distinguer les uns des autres. Les centres germinatifs ne présentent jamais de signes d'hyperactivité, bien au contraire, ils semblent le plus souvent atrophiés et on constate à ce stade des phénomènes de pycnose lymphocytaire très nets.

Les cordons médullaires apparaissent également rétrécis et l'on voit peu de lymphocytes libres dans les sinus.

Les vaisseaux sanguins qui alimentent les ganglions sont en état de vasodilatation très marquée et les lymphatiques lobaires sont béants et gorgés de lymphe, mais ils ne contiennent pas d'éléments circulants.

POUMONS. — A faible grossissement, on reconnaît des hémorragies abondantes, un œdème considérable et une vasodilatation de tous les capillaires des parois alvéolaires.

Les hémorragies envahissent tantôt un petit nombre d'alvéoles, tantôt un territoire pulmonaire, et c'est autour des grandes nappes sanguines que l'on observe les zones d'œdème

Ces hémorragies n'ont toutefois pas un caractère systématisé ou lobulaire.

Les infiltrations inflammatoires sont très discrètes ou inexistantes.

A fort grossissement, on voit nettement que la paroi des alvéoles est tuméfiée et dans les zones où l'hémorragie est peu importante, on suit parfaitement le sort des capillaires de ces parois.

Ils sont dilatés et gorgés d'hématies ; en de nombreux endroits de la paroi alvéolaire, on les voit très distinctement faire hernie dans la cavité alvéolaire. En d'autres points, ces petites poches gorgées d'hématies se rompent nettement à leur extrémité, car on distingue leurs parois qui s'écartent l'une de l'autre et les globules rouges qui sont déversés dans la cavité alvéolaire.

Mais il est vraisemblable qu'il y a, d'autre part, des phénomènes de diapédèse globulaire, car on remarque la présence de capillaires formant une hernie dilatée mais vide de sang et l'on observe des amas d'hématies accolés à leur paroi extérieure.

Dans les zones où l'hémorragie est très abondante, les parois alvéolaires ont été secondairement disloquées et les phénomènes que nous venons de décrire sont beaucoup moins reconnaissables.

Le flot des hématies envahit la plupart des bronches dont la lumière est encombrée de globules rouges partiellement hémolysés.

En résumé, les hémorragies sont particulièrement abondantes au niveau du poumon. Ce phénomène est aisé à comprendre si l'on considère la fragilité des capillaires des parois alvéolaires.

C'est au niveau de cet organe, uniquement, et là où les hémorragies étaient discrètes, que nous pouvons affirmer avoir observé des ruptures capillaires et cela grâce au fait exceptionnel que ces capillaires distendus faisaient hernie dans un espace vide constitué par la cavité alvéolaire.

FOIE. — *Injection préparante*. Nous avons observé des foies d'animaux soumis à des injections préparantes, soit par la

méthode de Shwartzman, soit par la méthode de Sanarelli, et à des injections déchaînantes.

Nous avons observé, au niveau du foie, les mêmes lésions de nécrose qu'après l'injection déchaînante ; elles révèlent une altération profonde du parenchyme hépatique.

Vingt-quatre heures après une injection préparante de Sanarelli, on peut déjà en constater de très importantes.

Elles débutent au voisinage de la veine intra-lobulaire et gagnent, de proche en proche, la presque totalité du lobule dans certaines zones. Toutefois, au voisinage des espaces portes, il reste des régions intactes.

La paroi des veines intra-lobulaires est intacte, leurs cellules endothéliales sont aplaties, elles sont dilatées et gorgées d'hématies, elles contiennent également de nombreux éosinophiles.

Les sinusoïdes présentent une dilatation considérable, même dans les zones encore intactes, mais les hématies augmentent à mesure qu'on se rapproche de la veine centro-lobulaire et ils ne sont gorgés de sang qu'au voisinage immédiat de cette veine.

Bien qu'au niveau des zones nécrotiques, leurs limites sont difficiles à distinguer ; il n'existe pas de nappes sanguines comparables, par exemple, à celles que l'on observe dans la stase hépatique d'origine cardiaque.

Dans les zones nécrotiques, il existe de plus une infiltration inflammatoire à polynucléaires très abondante et, parmi ceux-ci, les éosinophiles prédominent.

La nécrose des éléments hépatiques est caractérisée par l'atrophie des cellules, leur forme irrégulière, leur affinité éosinophile, la perte de colorabilité du noyau et du cytoplasme.

Lorsque l'on suit une même travée, on voit brusquement réapparaître des cellules normales.

Injection déchaînante. Nous avons examiné le foie de nombreux animaux ayant subi une injection déchaînante.

Dans tous les cas, nous avons observé des nécroses identiques à celles que nous avons décrites après l'injection préparante intraveineuse.

Elles sont plus ou moins importantes, suivant le cas, mais se rencontrent également au voisinage des veines centro-lobu-

laïres. Elles s'accompagnent de dilatation et de réplétions hématiques des sinusoides.

Les altérations du parenchyme sont plus marquées, les cellules hépatiques dans les zones nécrotiques sont à peine reconnaissables.

L'infiltration inflammatoire peut être plus abondante, mais ce n'est pas une règle absolue. Elle présente les mêmes caractères avec une prédominance de polynucléaires éosinophiles.

Dans un cas, nous avons observé de véritables thromboses fibrineuses des troncs principaux des veines sous-hépatiques fortement infiltrées de polynucléaires qui formaient par place des amas en voie de nécrose.

En résumé : après l'injection préparante, suivant la méthode de Sanarelli et après l'injection déchaînante, on observe régulièrement, au niveau du foie, des lésions qui se caractérisent par des nécroses disséminées. Ces nécroses s'observent au voisinage des veines centro-lobulaires et respectent les zones voisines des espaces portes.

Nous n'avons rencontré que dans un cas des thromboses des troncs importants des veines centro-lobulaires ; encore, dans ce cas, les veines, au centre des régions nécrotiques, étaient dilatées et remplies d'hématies, mais non thrombosées. Nous ne pouvons donc conclure que les nécroses du parenchyme hépatique soient dues à un phénomène thrombotique. Elles sont très profondes et s'accompagnent de dégénérescence complète du parenchyme hépatique. Cependant, si à ce niveau les sinusoides sont dilatés et gorgés de sang, les globules rouges ne s'évadent pas pour former des lacs sanguins.

Ces phénomènes de nécrose s'accompagnent toujours d'une forte infiltration inflammatoire où prédominent les polynucléaires éosinophiles.

Nous ne sommes pas parvenu à démontrer qu'il y ait un rapport de cause à effet, entre l'apparition des nécroses et l'apparition des phénomènes hémorragiques.

REINS. — Les reins ont été examinés après l'injection déchaînante.

Les phénomènes sont localisés à la zone corticale.

Tous les capillaires de cette région sont fortement dilatés

et gorgés de globules rouges. Par place même, on note la présence de petites hémorragies interstitielles sous-capsulaires.

Les glomérules sont absolument gorgés de sang.

Les globules rouges emplissent les pelotons glomérulaires, ils franchissent leur paroi et se retrouvent dans la cavité glomérulaire. On observe, d'ailleurs, que la lumière de nombreux tubes contournés est gorgée d'hématies.

CAPSULES SURRÉNALES. — Nous avons fait l'étude histologique des capsules surrénales chez quelques cobayes et quelques lapins après injection déchainante.

Nous avons observé une vasodilatation des sinusoïdes avec gros appel sanguin et, irrégulièrement, des hémorragies peu importantes localisées à la zone corticale.

*
* *

Dans ce travail, nous n'avons eu pour but, en entreprenant des recherches histologiques, que de contrôler les résultats que nous avons constatés macroscopiquement.

Nous n'avons pas voulu faire de recherches cytologiques, parce que nous avons estimé qu'elles dépassaient notre compétence. En particulier, nous n'avons signalé de modifications des endothéliums qu'au niveau des capillaires pulmonaires, car là, vraiment, les ruptures nous ont paru évidentes. Mais nous n'avons pas voulu pousser nos observations sur les capillaires cutanés, car nous avons craint de tomber dans le domaine de l'interprétation.

Il nous semble intéressant, à présent, de comparer les observations histologiques de nos prédécesseurs avec celles que nous avons pratiquées nous-même.

A l'origine, Shwartzman [50] a trouvé au niveau du derme, cinq et vingt-quatre heures après l'injection intraveineuse déchainante, des thromboses pariétales veineuses, de la transformation hyaline des vaisseaux, de l'œdème périphérique, des ruptures vasculaires et de l'infiltration sanguine des tissus. Gerber [51], dans le laboratoire de Shwartzman, a fait une étude histologique plus poussée.

Il montre, tout d'abord, qu'il n'y a pas de parallélisme entre l'importance d'une injection préparante et l'inflammation qui résulte de l'injection cutanée subséquente. Une injection préparante peut donner une forte inflammation locale, alors que les effets d'une injection déchaînante peuvent être très minimes.

Gerber n'ose affirmer que les hémorragies qu'il a observées sont en relation avec la présence de capillaires rompus. Il constate de nombreuses thromboses veineuses, mais n'observe aucune altération cellulaire des endothéliums à ce niveau. Les vaisseaux affectés sont entourés de polynucléaires, que l'on voit même infiltrer la paroi vasculaire.

Shwartzman en conclut, dans son traité, qu'il n'y a pas encore de preuves morphologiques de lésions endothéliales.

En ce qui concerne les viscères, Gerber constate après une simple injection intraveineuse de filtrat, au niveau du cœur, un gonflement irrégulier des fibres cardiaques avec dégénérescence cireuse, parfois des foyers de nécrose et une infiltration interstitielle à grands monocytes, à lymphocytes et à polynucléaires. Au niveau du foie, des foyers de nécrose et des thromboses veineuses. Les thrombi se rencontrent surtout dans les veines centro-lobulaires, rarement dans les espaces portes ; ils sont formés de masses d'éosinophiles, d'érythrocytes et de polynucléaires. On observe parfois, en même temps, une infiltration sous-endothéliale.

Au niveau des poumons, Gerber observe de l'œdème, des hémorragies et des thromboses. Au niveau de la rate, des nécroses en foyers, des thromboses des sinus et des artéioles des corpuscules de Malpighi. Il existe quelques foyers de nécrose avec hémorragie, limités au niveau du cortex surrénalien et, au niveau de la moelle osseuse, des nécroses capillaires et des thromboses veineuses.

Karsner et Moritz [52] constatent, au niveau de la peau, qu'après injection préparante, il apparaît de l'œdème et une infiltration inflammatoire à grands monocytes.

Pour ces auteurs, les effets de l'injection déchaînante ne diffèrent que par une intensité plus grande des phénomènes inflammatoires et une atteinte plus marquée des vaisseaux sanguins. Ces vaisseaux sont dilatés et il y a formation

d'hémorragies. L'infiltration cellulaire est plus intense et il y a phagocytose de débris cellulaires nécrosés.

Pour Apitz [53], les hémorragies profuses qui apparaissent après l'injection déchaînante résultent de lésions profondes des vaisseaux sanguins. Il décrit des lésions sous la forme de fortes migrations leucocytaires à travers la paroi vasculaire et la formation de thrombi de plaquettes au niveau de cette paroi. Il signale également des karyorrhexis et des dégénérescences graisseuses des cellules endothéliales. Par la suite, le tissu lésé se nécrose et se sépare des tissus environnants par une démarcation nette.

Au niveau des viscères, il décrit des nécroses du muscle cardiaque, du foie et de la rate, des foyers de dégénérescence graisseuse, des gonflements des organes parenchymateux et de l'œdème pulmonaire.

Après injections répétées de filtrats par voie intraveineuse, Apitz signale la fréquence et l'intensité des hémorragies rénales, les lésions étant les nécroses corticales, la néphrose glomérulo-tubulaire, avec ou sans infarctus.

Gerber retrouve d'ailleurs, dans les mêmes conditions, des lésions histologiques identiques au niveau du rein. Il décrit également des nécroses corticales avec hémorragies étendues. Kielanowski et Selzer [54] prélèvent des fragments de peau pour biopsie à des intervalles répétés après injection déchaînante intraveineuse. L'injection préparante a été pratiquée dix-neuf à vingt-deux heures auparavant, par voie intradermique. Le premier prélèvement a été pratiqué immédiatement avant l'injection déchaînante, les autres à intervalles rapprochés après cette injection et cela jusqu'à soixante-six heures après la déchaînante. Il ressort de leurs études histologiques que l'œdème, l'émigration leucocytaire périvasculaire et les thromboses veineuses ne sont point caractéristiques d'une réaction hémorragique positive, puisqu'on les observe sous l'influence de l'injection préparante et en cas de réaction déchaînante négative. La réaction déchaînante positive se caractérisera par un afflux sanguin important, avec dilatation excessive des capillaires, dont la rupture est la cause de l'infiltration sanguine. Ils constatent des lésions inconstantes de vacuolisation des cellules endothéliales. L'infiltration sanguine appa-

raît précocement dans la couche papillaire du derme et autour des muscles striés du tissu sous-cutané. Ces muscles subissent d'ailleurs des lésions dégénératives.

Kielanowski et Selzer donnent des hémorragies l'explication suivante. L'afflux sanguin provoqué par des changements humoraux, dont la nature nous échappe encore, provoque une augmentation de pression sanguine locale au niveau des capillaires. Cette augmentation est d'autant plus grande que les thromboses veineuses pariétales et oblitérantes empêchent une circulation veineuse normale. C'est cette augmentation excessive de pression qui provoque la rupture des capillaires.

En résumé, les phénomènes que les auteurs qui nous ont précédé décrivent au niveau des capillaires du derme, là où se réalisent les hémorragies, ne rendent que très incomplètement compte des manifestations cytologiques qui accompagnent les hémorragies. En d'autres termes, aucune étude histologique ne permet d'affirmer que ces hémorragies soient provoquées par une lésion des endothéliums de ces capillaires.

Bien que déjà, en 1928, Kolesnikoff [55], collaborateur de Zdrodovski, ait décrit, au niveau des endothéliums, des phénomènes de dégénérescence et de l'infiltration graisseuse et qu'il attribue à ces lésions la cause des hémorragies, cette description est beaucoup trop vague pour qu'on puisse nettement s'y référer. En ce qui concerne, à proprement parler, les lésions des endothéliums, les autres descriptions sont à peine moins imprécises.

Shwartzman décrit des transformations hyalines de la paroi des vaisseaux, mais Gerber ne constate aucune altération des cellules endothéliales. Apitz, par contre, signale des karyorrexes et des dégénérescences graisseuses des éléments endothéliaux. Kielanowski et Selzer notent des lésions, inconstantes d'ailleurs, de vacuolisation des cellules de l'endothélium.

En résumé, les lésions que l'on observe au niveau de ces éléments sont variables et, semble-t-il, inconstantes.

Personnellement, au niveau de la peau, nous n'avons jamais observé de lésions dégénératives des cellules endothéliales, soit après injection préparante, soit après injection déchaînante ; nous avons au contraire observé que ces éléments étaient habituellement très aplatis et ne présentaient ni phénomène de des-

truction nucléaire, ni phénomène de régénération mitotique.

Cependant, il est habituel d'observer, dans l'une et l'autre expériences, des granulations accolées aux cellules endothéliales et même phagocytées par elles. Ces granulations sont identiques à celles que l'on observe au niveau du derme après une injection de toxine.

Il est logique d'admettre cependant que des cellules qui ont fixé des toxines voient leur vitalité fortement compromise et soient en état de moindre résistance. On peut donc admettre qu'à ce niveau se produisent aisément des ruptures vasculaires.

Mais on peut se demander pourquoi ces ruptures ne se produisent qu'au moment de l'injection déchaînante, puisque, nous l'avons vu, les altérations vasculaires sur lesquelles nous venons d'insister se produisent dès l'injection préparante.

C'est une question à laquelle les simples faits histologiques ne permettent pas de répondre et l'on doit se borner à faire cette constatation que, d'une part, les capillaires, à la suite de l'injection préparante, sont dilatés mais ne contiennent qu'une faible quantité de globules rouges, tandis qu'après l'injection déchaînante, et cela dès l'heure qui suit celle-ci, les capillaires sont gorgés d'hématies. Il est vraisemblable que c'est à ce brusque afflux de globules rouges que cède l'endothélium altéré par la toxine.

Tous les auteurs que nous avons cités insistent sur la présence de thromboses vasculaires au niveau des veines. Nous avons également retrouvé ces thromboses. A la peau, elles siègent au niveau des rameaux veineux du derme profond. Elles sont constituées, outre la fibrine, par de nombreux polynucléaires, des monocytes et des hématies.

Il est évident que la présence de ces thrombi plaide également en faveur d'une altération des endothéliums, altération qui favorise leur formation.

D'autre part, comme l'indiquent Kielanowski et Selzer, par l'obstacle qu'ils apportent à l'afflux sanguin consécutif à l'injection déchaînante, ils favorisent la rupture endothéliale des capillaires situés en amont et, par conséquent, la formation des hémorragies.

Enfin, les auteurs insistent également sur l'importance de l'infiltration inflammatoire qui siège autour des vaisseaux dans

les zones injectées et cela dès les heures qui suivent l'injection préparante.

Nos observations sont également en plein accord avec ces constatations. Dès les premières heures qui suivent l'injection, de nombreux polynucléaires infiltrent le derme environnant les capillaires ; un examen plus attentif permet de voir que ces polynucléaires sont tout d'abord accolés en grand nombre à la paroi interne des capillaires ; ils sont de grande taille, contiennent des granulations et présentent des phénomènes d'altération vasculaire ; secondairement, on les voit s'insinuer entre les parois mêmes de ces vaisseaux et ces passages, qui se répètent en très grand nombre, peuvent également contribuer à diminuer la résistance des parois vasculaires.

Cependant, malgré tous ces phénomènes morphologiques, nous ne pensons pas que de simples faits histologiques puissent expliquer la raison initiale des hémorragies.

En effet, toutes les altérations que nous venons de décrire se retrouvent dès les premières heures qui suivent l'injection préparante et, comme Gerber l'a déjà fait remarquer, elles peuvent s'observer aussi en cas d'injection déchaînante négative ; elles constituent, par conséquent, uniquement des circonstances favorables à l'apparition d'une hémorragie, mais le développement de ces hémorragies est uniquement lié à la création de l'afflux sanguin périphérique qui, lui, ne se manifeste qu'en cas d'une réaction déchaînante positive.

Les lésions du foie, sur lesquelles nous nous sommes étendu, ont été déjà signalées précédemment. Gerber insiste sur le fait que le foie peut être le siège de foyers de nécrose et de thromboses vasculaires ; Apitz, également, signale ces phénomènes de nécrose hépatique. Ces auteurs décrivent l'apparition de phénomènes thrombotiques et nécrotiques, dans le foie, dès les heures qui suivent une injection préparante par voie veineuse. C'est bien ce que nous avons observé et, comme nous, Gerber constate que les nécroses frappent le centre des lobules et que ce sont les veines centro-lobulaires qui sont principalement thrombosées. L'étendue de ces nécroses est frappante. Déjà, après une injection préparante, la plus grande partie des lobules hépatiques peut être altérée et l'on peut se demander si la glande ne joue pas un rôle important dans

l'évolution du phénomène. Nous avons vu, toutefois, que seules les injections préparantes peuvent réaliser ces nécroses ; après de simples injections intradermiques, le foie reste absolument inaltéré.

Gerber et Apitz ont insisté sur les lésions du rein après injection intra-veineuse. Nous avons vu qu'après injection déchainante, les glomérules devenaient perméables aux hématies, le peloton glomérulaire se gorge de globules rouges et ceux-ci franchissent la paroi endothéliale et forment de véritables cylindres dans la lumière des tubes contournés. Par conséquent, il faut admettre, pour que puissent se réaliser ces phénomènes, une lésion profonde de la paroi des glomérules. Il y a également des lésions des capillaires interstitiels, puisque nous avons noté de petits foyers hémorragiques sous-corticaux.

Bien que les lésions pulmonaires ne soient qu'incidemment citées par les auteurs sous l'aspect d'œdème, d'hémorragies ou de thromboses, nous avons insisté sur ces lésions, car, par suite des circonstances anatomiques favorables, nous avons vu, au niveau des capillaires pulmonaires, de véritables ruptures des endothéliums. Des ruptures semblables ont d'ailleurs été décrites par J. Weir [56]. Elles se présentent très nettement dans des régions où l'hémorragie n'est pas trop violente.

En résumé, qu'il s'agisse des capillaires cutanés dans une région préparée ou des capillaires viscéraux, les hémorragies sont consécutives à l'afflux sanguin déterminé par l'injection déchainante ; mais les altérations vasculaires sont le fait de l'injection préparante, qui crée une sorte d'équilibre instable. Que survienne une hyperémie avant que soit rétabli l'état normal et on verra l'endothélium céder sous une pression anormale, à laquelle il est momentanément incapable de résister.

Qu'il me soit permis d'exprimer ici à M. le Professeur Renaux mes sentiments de profonde gratitude. Sans la lumière de ses conseils, sans sa critique sévère, mais toujours bienveillante, sans les paroles d'encouragement prodiguées aux moments de lassitude et de doute, ce travail n'aurait jamais vu le jour.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] SANARELLI (G.). *Ces Annales*, **8**, 1894, p. 193.
- [2] SANARELLI (G.). *C. R. de l'Acad. Sc.*, **163**, 1916, p. 538.
- [3] SANARELLI (G.). *Ces Annales*, **38**, 1924, p. 11.
- [4] ZDRODOVSKI (P.) et BRENN (E.). *Centralbl. f. Bakt. orig.*, **94**, 1925, p. 155.
- [5] ZDRODOVSKI (P.). *Ces Annales*, **42**, 1928, p. 1242.
- [6] SHWARTZMAN (G.). *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **25**, 1927-1928, p. 560 ; *Journ. Exp. Med.*, **48**, 1928, p. 247.
- [7] SHWARTZMAN (G.). *Proc. Soc. Exp. Med. and Biol.*, **26**, 1928, p. 207.
- [8] BURNET (F.). *Journ. Path. and Bact.*, **34**, 1931, p. 1290.
- [9] GRATIA et LINZ. *C. R. Soc. Biol.*, **106**, 1931, p. 1290.
- [10] BORDET (P.). *C. R. Soc. Biol.*, **106**, 1931, p. 236.
- [11] GRATIA et LINZ. *C. R. Soc. Biol.*, **107**, 1931, p. 236.
- [12] GRATIA et LINZ. *C. R. Soc. Biol.*, **107**, 1931, p. 1579 ; **108**, 1931, p. 238.
- [13] GRATIA et LINZ. *C. R. Soc. Biol.*, **108**, 1931, p. 425.
- [14] BORDET (P.). *C. R. Soc. Biol.*, **107**, 1931, p. 622.
- [15] BORDET (P.). *C. R. Soc. Biol.*, **107**, 1931, p. 1465.
- [16] BORDET (P.). *Ces Annales*, **56**, 1936, p. 325.
- [17] ALECHINSKY (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **118**, 1935, p. 1496.
- [18] ALECHINSKY (A.). I. Internat. Medicinische Woche in der Schweiz (Montreux, 9-14 septembre 1935) : *Annali d'igiene*, **45**, 1935, p. 673.
- [19] DURAN-REYNALS. *Journ. Exp. Med.*, **58**, 1933, p. 451.
- [20] ALECHINSKY (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **119**, 1935, p. 1199.
- [21] SHWARTZMAN (G.). *Journ. Exp. Med.*, **62**, 1935, p. 621.
- [22] GRATIA et LINZ. *Ces Annales*, **49**, 1932, p. 131.
- [23] SHWARTZMAN (G.). *Journ. Exp. Med.*, **51**, 1930, p. 571.
- [24] GRATIA et LINZ. *C. R. Soc. Biol.*, **107**, 1931, p. 234.
- [25] ALBUS, GUNTHER et SHWARTZ (Hugo). *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, **93**, 1938, p. 403.
- [26] GRATIA et LINZ. *C. R. Soc. Biol.*, **109**, 1938, p. 585 ; *Ces Annales*, **50**, 1933, p. 89.
- [27] BOCK (H.). *Centralbl. f. Bact. Orig.*, **125**, 1932, p. 435.
- [28] BORDET (P.). *Ces Annales*, **57**, 1936, p. 357.
- [29] ALECHINSKY (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **124**, 1937, p. 289.
- [30] PRAUSNITZ-KUSTNER. *Centralbl. f. Bact.*, **86**, 1931, p. 160.
- [31] ALECHINSKY (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **124**, 1937, p. 148.
- [32] ALECHINSKY (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **126**, 1936, p. 148.
- [33] GROSS (H.). *Klin. Woch.*, **11**, 1932, p. 1473.
- [34] FRISCH (I.). *Arch. Int. Med.*, **46**, 1930, p. 40.
- [35] GROSS (H.). *Centralbl. f. Bact. Orig.*, **123**, 1931, p. 96 et 123.
- [36] ALECHINSKY (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **121**, 1936, p. 166.
- [37] ALECHINSKY (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **128**, 1938, p. 790.
- [38] ALECHINSKY (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **129**, 1938, p. 513.
- [39] ALECHINSKY (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **129**, 1938, p. 514.

- [40] MESROBEANU (L.). *Thèse de Strasbourg*, 1936. Masson, éditeur (Paris).
- [41] BOIVIN et MESROBEANU. *C. R. Soc. Biol.*, **114**, 1933, p. 307.
- [42] RAISTRICK et TOPLEY. *Brit. Journ. Exp. Path.*, **15**, 1934, p. 113.
- [43] DELAFIELD (M. E.). *Brit. Journ. Exp. Path.*, **15**, 1934, p. 130.
- [44] MARTIN (A. R.). *Brit. Journ. Exp. Path.*, **15**, 1934, p. 137.
- [45] HUDDLESON et PENNELL. Second. Intern. Congress for Microbiology (1936).
- [46] LISBONNE et MONNIER. *C. R. Soc. Biol.*, **123**, 1936, p. 114.
- [47] TOPLEY et WILSON. *The Principles of Bacteriology and Immunity*, 2^e édition, 1936.
- [48] BOIVIN et MESROBEANU. *Rev. Immun.*, **1**, 1935, p. 555 ; **2**, 1936, p. 113.
- [49] BOIVIN, BOIVIN et IZARD. *C. R. Acad. Sc.*, **203**, 1936, p. 284 ; *C. R. Soc. Biol.*, **124**, 1937, p. 25.
- [50] SHWARTZMAN (G.). *Phenomenon of local tissue reactivity*. P. Hoeber, New-York, 1937.
- [51] GERBER (I.). *Arch. Path.*, **21**, 1936, p. 331 et 776.
- [52] KARSNER et MORITZ. *Journ. Exp. Med.*, **60**, 1934, p. 37.
- [53] APITZ (K.). *Virchow's Arch. Path. Anat.*, **293**, 1934, p. 1.
- [54] KIELANOVSKI et SELZER. *C. R. Soc. Biol.*, **115**, 1934, p. 648.
- [55] KOLESSNIKOFF. Cité par ZDRODOVSKI. *Ces Annales*, **42**, 1928, p. 1242.
- [56] WEIR (J. W.). *Journ. Immunol.*, **34**, 1938, p. 76.

CURARISATION ET CHRONAXIE

par P. DE BERREDO CARNEIRO.

(Laboratoire de Chimie biologique de l'Institut Pasteur.)

« Nous sacrifierons des hypothèses et des théories tant qu'il en faudra, pourvu que nous découvriions des faits nouveaux qui seront les seules réalités indestructibles sur lesquelles la science positive doit se fonder et s'élever peu à peu. »

CLAUDE BERNARD.

(Leçons de physiologie expérimentale appliquée à la médecine.)

L'histoire chimique du curare, poison à flèche des Indiens de l'Amazonie et de l'Orénoque, commence par les travaux de Roulin et Boussingault,¹ en 1827. Son étude pharmacodynamique débute avec Claude Bernard, en 1844. Malgré de nombreuses recherches réalisées dans ces deux directions pendant environ un siècle, plusieurs points encore obscurs et contradictoires imposaient une révision d'ensemble de la question.

Dans un travail précédent [1] nous avons exposé les résultats auxquels nous a conduit l'examen chimique de deux échantillons de curare, originaires du bassin amazonique, et de différentes espèces de *Strychnos* de la même région. Après avoir isolé, par le réactif de Gabriel Bertrand [2], les principes actifs présents dans nos petits pots de poison, nous les avons retrouvés dans *Strychnos lethalis* Barb. Rod. L'hypothèse d'une origine animale du curare était ainsi définitivement éliminée. L'identification de la plante utilisée par les Indiens mettait fin, en même temps, aux discussions qui partageaient les naturalistes, les uns attribuant aux Ménispermées et les autres aux Strychnées, l'élaboration des principes curarisants.

Ces recherches nous ont permis d'établir que la toxicité du curare provient de deux alcaloïdes distincts dont nous avons

déterminé les poids moléculaires, la composition élémentaire et les spectres de fluorescence. Ces deux bases organiques que nous avons dénommées *Strychnoléthaline* ($C_{22}H_{27}O_4N$) et *Curaléthaline* ($C_{25}H_{31}O_7N$) se retrouvent en proportions variables dans les échantillons de curare examinés et dans l'écorce de *Strychnos lethalis* Barb. Rod. D'après leur composition elles diffèrent sensiblement des alcaloïdes de même action physiologique déjà signalés par Boehm, King et Wieland.

Comme suite à ces investigations chimiques nous avons procédé à l'étude pharmacodynamique comparative de la strychnoléthaline et du poison à flèche dont elle fut extraite. Nous nous sommes servi, dans ce but, de deux échantillons différents de curare : le premier provenait directement des Indiens Ticunas ; le second faisait partie de la collection de Paul Bert et nous fut donné par M. le professeur P. Portier.

LE POINT DE VUE DE CLAUDE BERNARD.

Afin de bien fixer la manière dont le grand maître de la physiologie moderne concevait le phénomène de la curarisation, nous transcrivons textuellement quelques-uns de ses aperçus, en soulignant les passages qui nous intéressent de plus près [3].

« Dans le mois de juin 1844, je fis ma première expérience sur le curare : j'insinuai sous la peau du dos d'une grenouille un petit fragment de curare sec et j'observai l'animal. Dans les premiers moments, la grenouille allait et sautait comme avant, avec la plus grande agilité, puis elle resta tranquille. Au bout de *cinq minutes*, les jambes de devant cédèrent, le corps s'aplatit et s'affaissa peu à peu. *Après sept minutes la grenouille était morte*, c'est-à-dire qu'elle était devenue molle, flasque, et que le pincement de la peau ne déterminait plus chez elle aucune réaction vitale. »

« En ouvrant la grenouille empoisonnée, je vis que son cœur continuait à battre, son sang rougissait à l'air et présentait ses propriétés physiologiques normales. Je me servis ensuite de l'électricité comme de l'excitant le plus convenable pour

réveiller et provoquer la réaction physiologique des éléments nerveux et musculaires. En agissant directement sur les muscles, l'excitant produisait des contractions violentes dans toutes les parties du corps ; *mais en agissant sur les nerfs eux-mêmes il n'y avait plus aucune réaction. Les nerfs, c'est-à-dire les tubes nerveux qui les composent, étaient donc complètement morts*, tandis que les autres éléments organiques des muscles, du sang, des muqueuses étaient très vivants et conservaient encore leurs propriétés physiologiques pendant un grand nombre d'heures, ainsi que cela se voit surtout chez les animaux à sang froid. »

« En parcourant les diverses phases de l'empoisonnement, nous avons vu que *le curare détruit le mouvement en laissant persister la sensibilité. De plus, nous avons prouvé qu'il n'atteint qu'un des éléments efficaces du mouvement, le nerf moteur*, car le cœur continue à battre, et les muscles ont conservé leurs facultés contractiles intactes. »

On voit donc que pour Claude Bernard l'action caractéristique du curare est de tuer l'élément nerveux, tout en respectant l'élément musculaire. Une fois mort, le nerf n'est plus excitable au courant galvanique. Cet effet secondaire n'est pas lié à l'action spécifique du curare, mais à la destruction du tissu nerveux, quel qu'en soit l'agent.

LA THÉORIE CHRONOLOGIQUE DE LAPICQUE.

L. et M. Lapicque expliquent tout autrement le phénomène de la curarisation [4]. Ils rattachent ce trouble à la théorie de l'excitabilité en fonction du temps et lui donnent une définition nouvelle. L'interprétation de Claude Bernard est abandonnée. L'étude directe des modifications anatomiques ou physiologiques provoquées par le curare cède la place à des mesures d'excitation des muscles et des nerfs moteurs. Les effets du courant électrique et les rapports entre ses différentes caractéristiques (durée, intensité, forme de l'onde, etc.) passent au premier plan et font quelque peu oublier les transformations bio-chimiques qui sont à la base de l'empoisonnement par le curare.

Pour Lapicque, la transmission de l'influx nerveux est essentiellement électrique. Il est ainsi porté à assimiler le processus physiologique de l'excitation aux effets du courant galvanique, et à raisonner sur celui-là d'après des lois purement physiques.

Selon la théorie chronologique de l'excitabilité, un muscle et son nerf moteur, à l'état normal, sont isochrones. Le curare, d'après les propres termes de Lapicque, sans toucher à la chronaxie nerveuse, augmente la chronaxie musculaire, plus ou moins suivant la dose, et le décrochement se produit quand les chronaxies des deux tissus présentent entre elles un écart déterminé, en sorte que l'arrêt de la transmission semble dû à cet hétérochronisme.

L'excitabilité indirecte du muscle est abolie, mais son excitabilité directe subsiste et, contrairement à l'affirmation de Claude Bernard, le nerf reste, pour lui-même, excitable et conducteur. La curarisation est dès lors définie par cette simple variation de chronaxie, indépendamment de l'agent qui la provoque : l'hétérochronisme est sa seule condition constante. Toutes les substances toxiques capables de produire, directement ou indirectement, cet effet, sont groupées sous la dénomination commune de poisons curarisants (strychnine, spartéine, scopolamine, vératrine, méthylmorphine, méthylquinine, méthylstrychnine, quinoline, pyridine, pipéridine, camphre, venin de cobra, etc.).

En serrant de plus près la question, Lapicque établit que la curarisation apparaît dans chaque cas au moment où la chronaxie du muscle est *deux fois plus grande* que celle du nerf, ce qui le conduit à ériger en loi générale que l'isochronisme du nerf et du muscle est la condition nécessaire à la transmission.

En résumé, pour Claude Bernard, l'action essentielle du curare est de « détruire le mouvement en laissant subsister la sensibilité », la cause immédiate de la paralysie et de l'abolition de l'excitation indirecte étant la mort du nerf moteur. Pour L. Lapicque, le nerf moteur subsiste intact. La curarisation est uniquement déterminée par l'hétérochronisme d'origine musculaire.

OBSERVATIONS ET EXPÉRIMENTATIONS PERSONNELLES.

Afin d'établir, préliminairement, que la strychnoléthaline séparée par nous est une base curarisante, nous avons répété les expériences classiques de Claude Bernard avec la grenouille, en interceptant le passage du sang artériel dans les pattes du train postérieur par la ligature des artères, tout en laissant intacts les nerfs qui font communiquer ces membres avec la moelle épinière. Aussi bien avec la strychnoléthaline qu'avec nos deux échantillons de curare, les résultats furent concordants : *conservation de la sensibilité et abolition de la motricité*. Mais, contrairement à l'observation de Claude Bernard, le sciatique des grenouilles complètement paralysées continue de transmettre l'excitation électrique. Cette divergence nous semble provenir du fait que Claude Bernard curarisait ses animaux d'expérience par l'insertion sous-cutanée d'un fragment de curare, sans pouvoir nullement contrôler la dose effective de poison introduit dans l'organisme. D'après son propre témoignage, *sept minutes après* la grenouille était morte. Les proportions relativement énormes de principes actifs ainsi absorbés entraînaient rapidement l'altération du tissu nerveux.

Notre manière d'opérer est beaucoup plus douce. Les solutions titrées que nous injectons dans le sac lymphatique des grenouilles ne provoquent la paralysie totale qu'après une heure et demie à deux heures de lente absorption. Nous sommes cependant arrivé au même résultat que Claude Bernard par l'emploi d'une dose cent fois plus grande que celle nécessaire à déterminer la paralysie totale. Dans ces conditions, on confond en une seule deux étapes distinctes de la curarisation : la suppression de la motricité avec conservation de la sensibilité et l'abolition de l'excitabilité électrique indirecte. En travaillant avec des solutions très diluées, de toxicité connue, nous avons pu dissocier ces deux effets du poison jusqu'ici confondus.

Les conceptions fondamentales concernant le mécanisme de la curarisation étant ainsi mises en jeu, l'examen approfondi

de la question, du point de vue de la chronaxie, devenait indispensable. Nous l'avons entrepris en employant le procédé de Lapicque par les condensateurs, avec les précautions nécessaires. Nos essais ont porté sur le sciatique-gastrocnémien de grenouille, tantôt à l'état normal, tantôt sous l'action du curare ou de la strychnoléthaline, en solutions titrées. Dans l'un et l'autre cas nos déterminations ont été faites après la destruction de la moelle. A titre comparatif, quelques mesures ont été aussi réalisées après la section du nerf sciatique à sa racine. Les résultats ont toujours été absolument concordants (1). Les doses mortelles de la strychnoléthaline par voie sous-cutanée sont de 1,4 γ par gramme pour le cobaye et de 1 γ par gramme pour le lapin. La grenouille supporte des doses bien plus fortes ; on peut, cependant, la paralyser totalement avec 2 γ par gramme.

En ce qui concerne le nerf et le muscle des grenouilles non curarisées, nos déterminations coïncident parfaitement avec celles publiées par L. et M. Lapicque. Par contre, sur des grenouilles paralysées, soit par la strychnoléthaline, soit par le curare, avec 2 γ par gramme, de principe actif, nos mesures de chronaxie nous ont conduit à des résultats différents.

La composition du curare étant jusqu'alors inconnue, les physiologistes ne pouvaient pas fonder leurs expériences sur des données quantitatives. D'autre part, les différents curares d'origine indienne, provenant de la décoction de nombreuses plantes inconnues, pouvaient éventuellement provoquer, en plus de la curarisation, d'autres troubles neuro-musculaires.

Le tableau ci-après reproduit quelques-unes des valeurs que nous avons trouvées sur une vingtaine de grenouilles examinées. Deux faits nouveaux ressortent de ces expériences.

1° L'augmentation de la chronaxie du gastrocnémien par l'effet de la strychnoléthaline ou du curare peut atteindre des

(1) Nos mesures de chronaxie ont été réalisées au Laboratoire de Chimie thérapeutique de l'Institut Pasteur. Nous tenons à remercier M. Bovet d'avoir bien voulu mettre à notre disposition l'appareillage nécessaire à ces déterminations, et du cordial accueil qu'il nous a réservé.

valeurs dix fois plus grandes que la valeur normale sans entraîner l'abolition de l'excitation électrique indirecte.

2° Chez la grenouille paralysée par la strychnoléthaline ou par le curare, à des doses convenables, l'excitation indirecte donne pour la chronaxie des valeurs identiques à celles de la grenouille normale.

Chronaxie du sciatique-gastrocnémien (excitation directe et indirecte) en fonction du temps écoulé après la dissection (τ : chronaxie en millièmes de seconde).

POIDS en grammes	TEMPS en heures	EXCITATION	
		directe en τ	indirecte en τ
I. — Grenouilles normales :			
58	1/2	0,38	0,29
46	3	0,37	0,31
II. — Grenouilles paralysées par la strychnoléthaline :			
65	1/2	3,93	0,26
45	2	2,59	0,29
III. — Grenouilles paralysées par le curare des Ticunas :			
52	1/2	3,96	0,34
63	4	2,88	0,31
IV. — Grenouilles paralysées par le curare de la collection de Paul Bert :			
75	1/2	4,20	0,38
48	2	3,66	0,33

La persistance de l'excitation au courant galvanique d'un muscle volontaire, à travers son nerf moteur, chez un animal curarisé, alors que l'isochronisme de l'état normal a fait place à un hétérochronisme prononcé, rend évident que le processus physiologique de l'excitation diffère essentiellement de la stimulation électrique. La signification des schémas purement physiques de l'excitation est d'ailleurs, depuis longtemps, mise sérieusement en doute [5]. D'autre part, la théorie des médiateurs chimiques s'enrichit chaque jour de faits qui révolutionnent la physiologie nerveuse. La fonction de l'adrénaline et de l'acétylcholine libérées par les terminaisons nerveuses, d'abord restreinte au système nerveux autonome, s'est ensuite étendue aux excitations motrices. Les travaux de Loewi et Dale ont ouvert des voies d'une grande

fécondité et tout laisse entrevoir que la transmission nerveuse dépend essentiellement de facteurs biochimiques.

C'est dans ce cadre que le phénomène de la curarisation trouvera, certainement, une explication satisfaisante. Dès maintenant, il faut cependant définir ce trouble fonctionnel par ses attributs fondamentaux : abolition de la motricité et conservation de la sensibilité. Le groupe hétérogène et mal défini des poisons curarisants doit être, en outre, réduit aux seuls principes toxiques capables de produire un tel effet par une action périphérique. Ces acceptions nouvelles s'imposent car, selon la judicieuse remarque de Claude Bernard « si l'on perd les phénomènes de vue pour s'attacher aux mots, on est bien vite en dehors de la réalité ».

BIBLIOGRAPHIE

- [1] DE BERREDO-CARNEIRO (P.). *C. R. Acad. Sc.*, **206**, 1938, p. 1202.
- [2] BERTRAND (Gabriel). *C. R. Acad. Sc.*, **128**, 1899, p. 742 ; *Bull. Soc. Chim.*, **21**, 1899, p. 434.
- [3] BERNARD (Claude). *Etudes physiologiques sur quelques poisons américains*, 1864.
- [4] LAPICQUE (Louis). *L'excitation en fonction du temps*, 1926. *La chronaxie et ses applications physiologiques*, 1938.
- [5] OZORIO DE ALMEIDA (M.). A propos de la nouvelle théorie de l'excitation électrique des tissus de A.-M. MONNIER. *Ann. da Academia Brasileira de Sciencias*, 1934.

Le Gérant : G. MASSON.

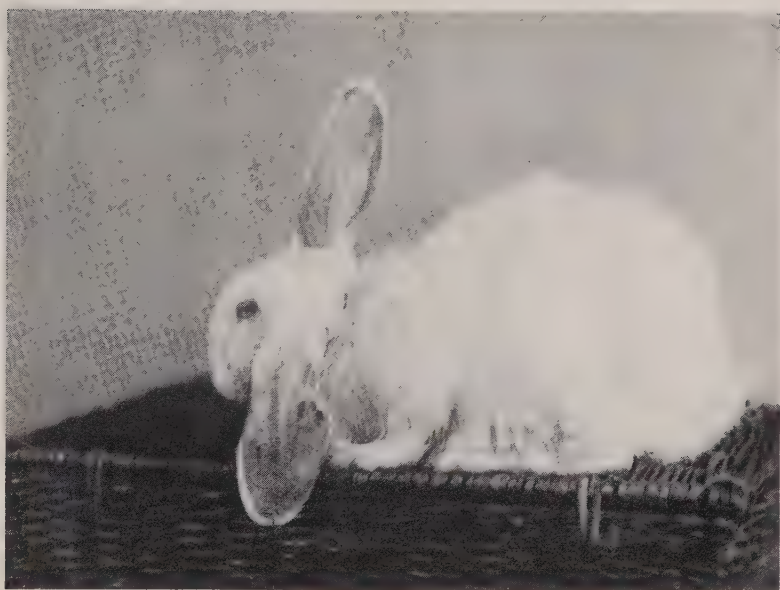


FIG. 4. — Réaction hémorragique de l'oreille gauche
quatre heures après l'injection déchainante. Oreille droite normale.



Fig. 2. — Oreille gauche.

Fig. 2 et 3. — Les oreilles du même lapin vingt-quatre heures après l'application de l'antibiotique.



FIG. 5. — Oreille témoin



FIG. 4. — Autre exemple de réaction hémorragique intense vingt-quatre heures après l'injection d'hermaphrodite.



FIG. 6. — Réaction hémorragique obtenue à l'aide d'un filtrat de culture sur gélose de vingt-quatre heures.



FIG. 7. — Réaction hémorragique obtenue à l'aide d'un filtrat de culture sur bouillon de six jours.

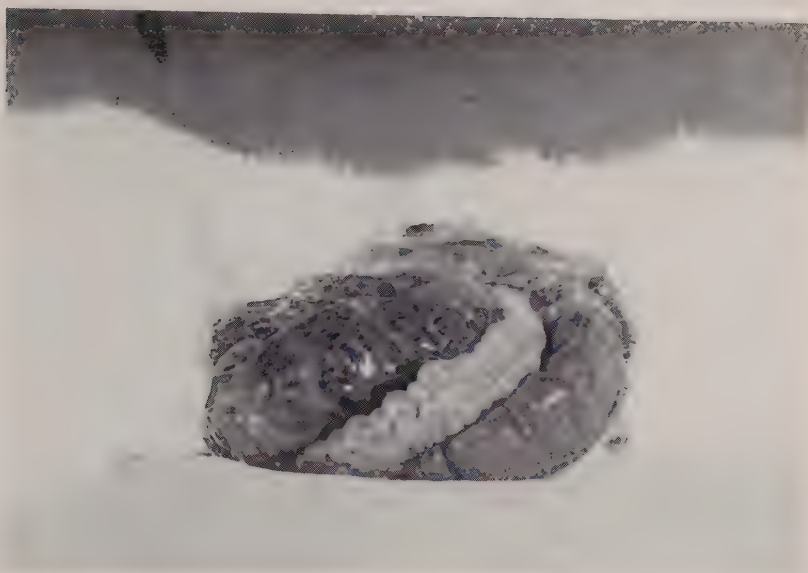


FIG. 8. — Réaction purpurique du gros intestin.



FIG. 9. — Taches hémorragiques à l'intestin grêle.

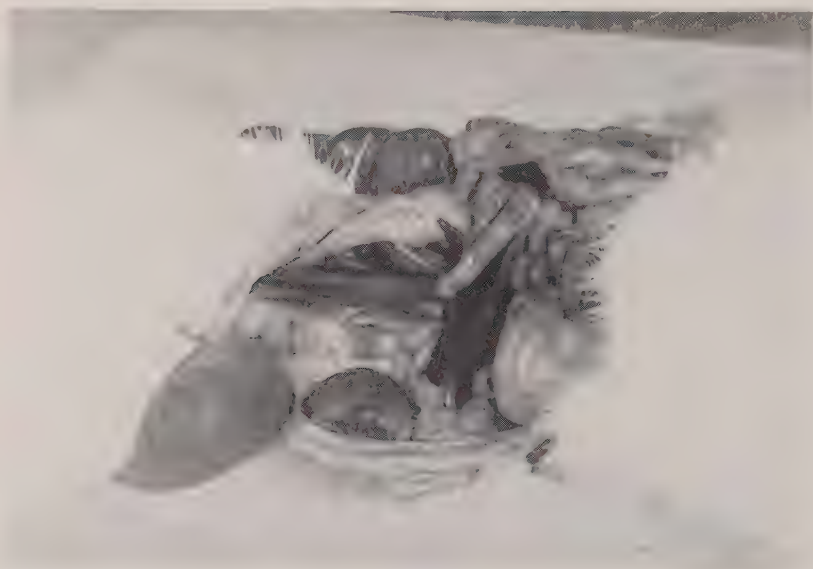


FIG. 10. — Rein ponctué de nombreuses pétéchiés, vessie congestionnée, péritoine pariétal et diaphragme présentant de larges ecchymoses.



FIG. 11. — Grande plaque hémorragique avec nécrose de la paroi antérieure de l'estomac.

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

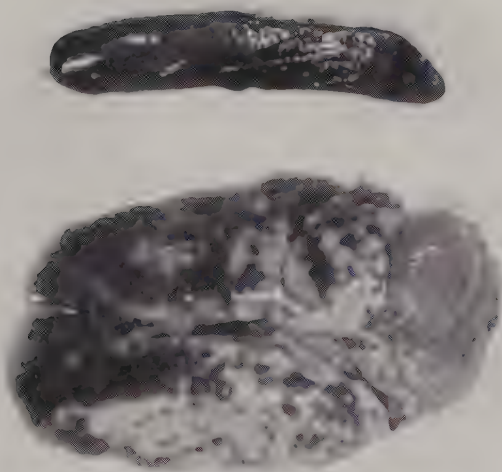


FIG. 12. — Nombreuses taches hémorragiques du poumon.
Rate, note infiltrée de sang.

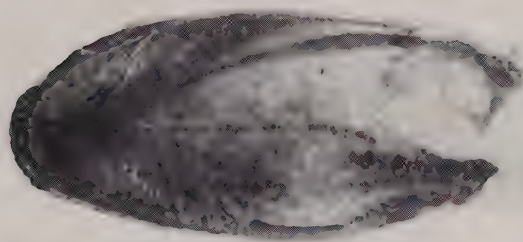


FIG. 13. — Nappe hémorragique
couvrant environ $\frac{2}{3}$ de la surface de l'oreille.

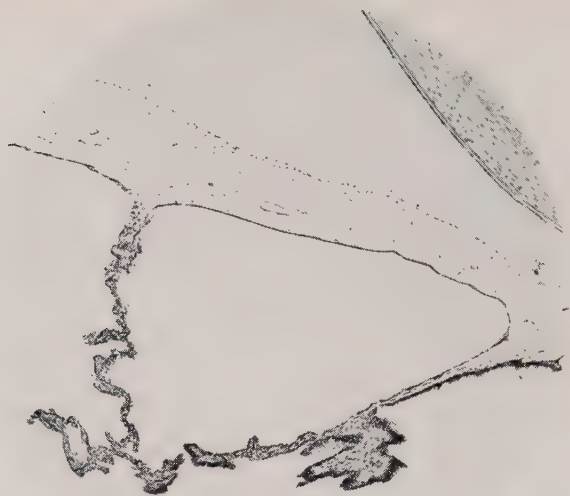


FIG. 14. — Œil de lapin albinos. Corps ciliaire normal.



FIG. 15. — Œil de lapin albinos.
Injection préparante : corps ciliaire fortement œdématié.



FIG. 16. — Œil de lapin albinos. Injection déchainante : corps ciliaire œdématisé entièrement hémorragique par rupture des parois vasculaires.

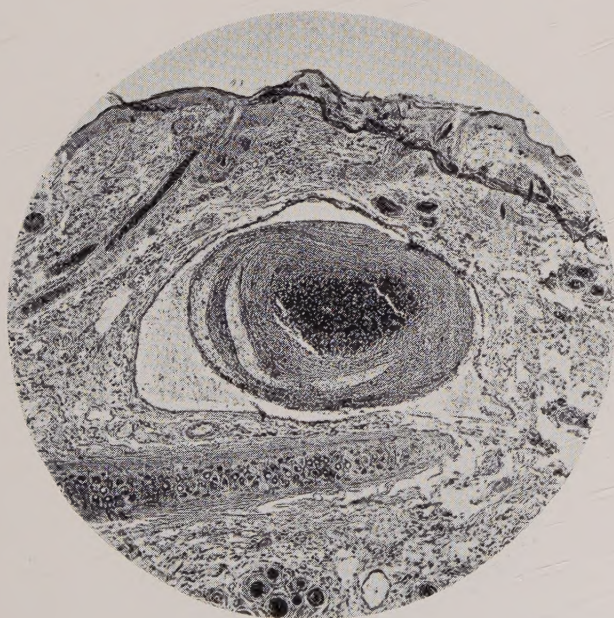


FIG. 17. — Oreille de lapin. Injection préparante. Thrombose dans une grosse veine.

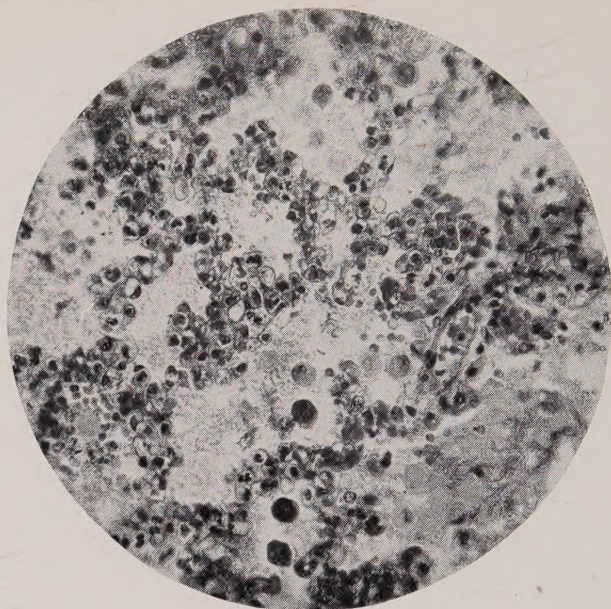


FIG. 48. — Poumon. Injection déchainante. Région en dehors d'une zone d'hémorragie massive, œdème des parois alvéolaires. Dilatation des capillaires avec ou sans hématies.

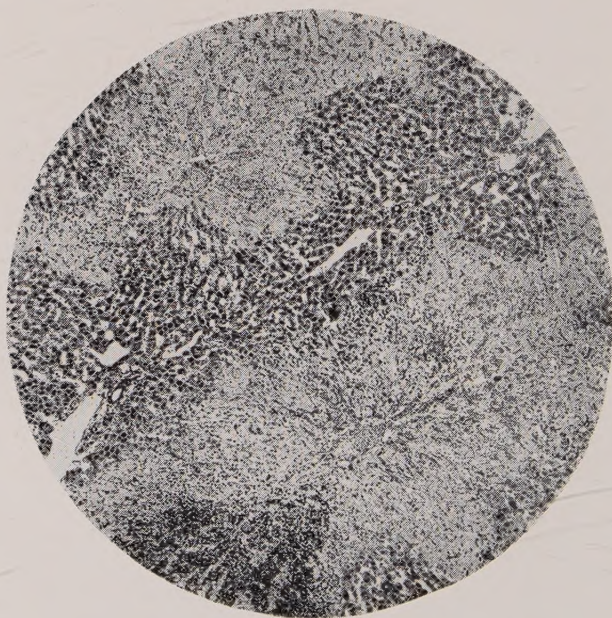


FIG. 49. — Foie. Injection préparante par voie veineuse. Grosses zones de nécrose autour des veines centro-lobulaires qui sont thrombosées.

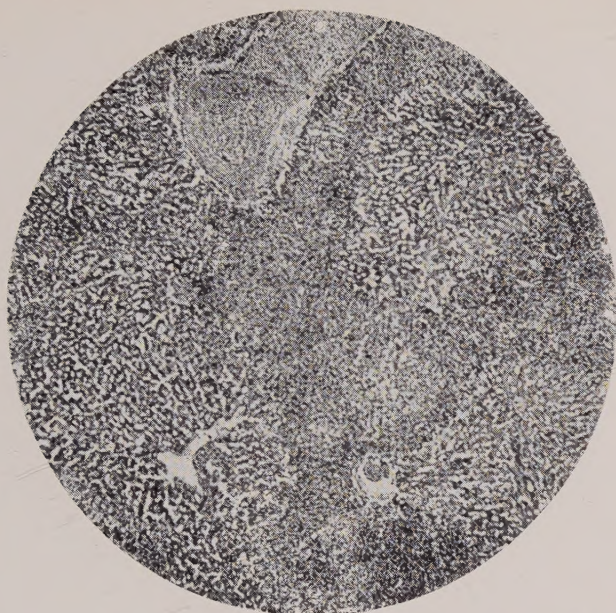


FIG. 20. — Injection déchainante. Zones de nécrose comme en 19.
Thrombose dans une grosse veine.

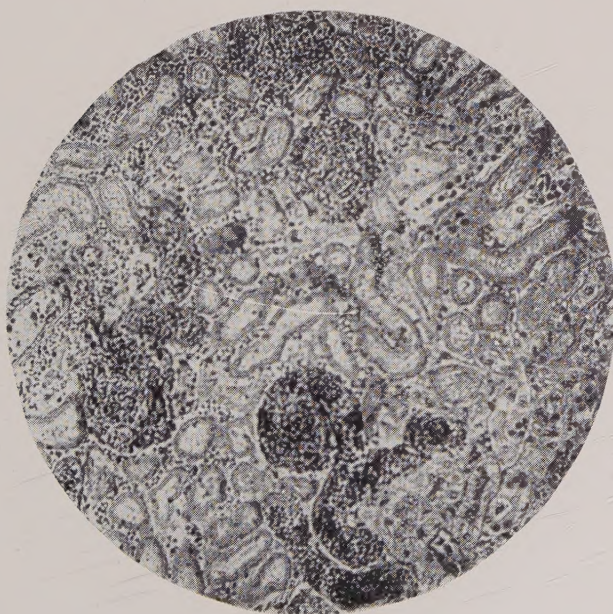


FIG. 21. — Rein. Injection déchainante. Réplétion des glomérules par des hématies. Passage de ces hématies dans les tubes contournés et début d'hémorragies interstitielles.

